



Susana Rita Varela Cargaleiro

Licenciada em Química Aplicada

Engenharia reversa de uma emulsão concentrada

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Sónia Cristina Gomes Lucas Aparício,
Directora de Departamento, Departamento de
Desenvolvimento e Controlo de Matérias Primas, Sapec
Agro

Co-orientador: Professora Paula Cristina de
Sério Branco, Professora Auxiliar da Faculdade de
Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Arguente: Prof. Doutor Marco Diogo Richter Gomes da Silva

Presidente: Prof. Doutor António Jorge Dias Parola

Vogal: Engenheira Sónia Cristina Gomes Lucas Aparício



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro de 2015

Susana Rita Varela Cargaleiro

Licenciada em Química Aplicada

Engenharia reversa de uma emulsão concentrada

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Sónia Cristina Gomes Lucas Aparício, Directora de Departamento,
Departamento de Desenvolvimento e Controlo de Matérias Primas, Sapec Agro

Co-orientador: Paula Cristina de Sério Branco, Professora Auxiliar da
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Arguente: Prof. Doutor Marco Diogo Richter Gomes da Silva

Presidente: Prof. Doutor António Jorge Dias Parola

Vogal: Engenheira Sónia Cristina Gomes Lucas Aparício

Copyright Susana Rita Varela Cargaleiro, FCT-UNL, UNL

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Resumo

Foi investigada a fórmula de uma emulsão concentrada, o Vertimec Gold, da Syngenta. Com o objetivo de identificar o(s) surfactante(s) presente(s) no Vertimec Gold, recorreu-se a cromatografia líquida com um detetor de espectrometria de massa (HPLC/MS) e de arranjo de díodos (HPLC-DAD), espectroscopia de absorção atómica (AAS) e cromatografia iónica, sendo identificado um emulsionante não iónico (óleo de rícino etoxilado). Recorreu-se, também, a GC-FID (cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama) para quantificação de 2,6-di-*tert*-butil-*p*-cresol (BHT), 1,2-propanodiol e ciclo-hexanol. A identidade destes compostos foi confirmada com recurso a um detetor de massas (MS).

Utilizando as conclusões retiradas das análises cromatográficas, mimetizou-se a formulação e realizaram-se diversos ensaios físicos-químicos, com o objetivo de comparar o comportamento de ambas as formulações. Foram realizados testes de estabilidade sobre as mesmas, a 0°C durante 7 dias (T7) e a 54°C durante 14 dias (T14). Nestes testes analisou-se o teor em substância ativa com recurso a HPLC-DAD (cromatografia líquida com detetor de arranjo de díodos), estabilidade de emulsão, pH, densidade e espumas. As análises foram realizadas não só ao produto submetido ao teste de estabilidade como também à amostra que permaneceu à temperatura ambiente (T0).

Não foi possível quantificar o óleo de rícino etoxilado no Vertimec Gold. No entanto, a utilização de HPLC/MS permitiu confirmar que este se encontra presente na formulação. Tendo em conta este facto e ainda o facto dos resultados dos testes físico-químicos terem sido idênticos em ambas as formulações, pode concluir-se que a fórmula do Vertimec Gold foi igualada com sucesso.

Palavras-chave: Surfactante, emulsão concentrada, cromatografia, testes físico-químicos

Abstract

The formula of an emulsion concentrate by Syngenta, Vertimec Gold, was investigated. In order to identify the surfactants in Vertimec Gold, high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC/MS) and photodiode array detection (HPLC-DAD), atomic absorption spectroscopy (AAS) and ionic chromatography were used. With this techniques, a non-ionic emulsifier – a ricin oil – was identified. Gas chromatography with a FID detector was used for quantification of 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol (BHT), 1,2-propanediol and cyclohexanol. The identity of the compounds was confirmed using a mass spectrometer (MS).

Using the conclusions from the chromatographic analysis, the formulation was reproduced and physical-chemical tests were performed in order to compare the behavior of both formulations. Stability tests at 0 ° C for 7 days and 54°C for 14 days were performed. In these tests, the content of active substance (through a HPLC equipped with a diode array detector), emulsion stability, pH, density, and foams were measured. The physical-chemical tests were performed not only to the product subjected to the stability test but also to the sample which remained at room temperature during the stability test.

It wasn't possible to quantify the ethoxylated ricin oil in Vertimec Gold however, the utilization of HPLC/MS confirmed his presence. Moreover, taking into account that the results of the physico-chemical tests were identical in both formulations, it can be concluded that the proposed formula is a good match.

Key-words: Surfactant, emulsion concentrate, chromatography, physico-chemical tests

Índice de matérias

Resumo	vii
Abstract	ix
Índice de figuras	xiii
Índice de tabelas	xv
Índice de abreviaturas e siglas	xvii
I. Introdução	1
I.1. Preâmbulo	3
I.2. O grupo SAPEC	3
I.3. Engenharia Reversa	3
I.4. Surfactantes	4
I.4.1. Estrutura molecular	4
I.4.2. Atividade Superficial	5
I.4.3. Adsorção e micelização	5
I.4.4. Propriedades	6
I.4.5. Identificação e quantificação	11
I.5. Formulações	13
I.5.1. Emulsão concentrada (EC)	14
II. Discussão	19
II.1. Identificação de surfactantes	22
II.2. Identificação e quantificação de outros excipientes	28
II.3. Formulação	34
II.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	36
II.3.2. Análise das formulações com recurso a HPLC/MS	37
II.3.3. Teor em substância ativa	39
II.3.4. Estabilidade de emulsão	41
II.3.5. Persistência de espumas	42
II.3.6. Determinação da densidade	42
II.3.7. Determinação do pH 1% (v/v)	44
III. Procedimento Experimental	45
III.1. Identificação de surfactantes	47
III.1.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	47
III.1.2. Espectroscopia de absorção atômica (AAS)	50
III.1.3. Cromatografia iónica	51
III.2. Identificação e quantificação de outros excipientes	51
III.2.1. Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de ionização de chama (GC-FID)	52
III.2.2. Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de espectrometria de massa (GC/MS)	53
III.3. Formulação	54
III.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	54

III.3.2. Análise das formulações com recurso a HPLC/MS	54
III.3.3. Teor em substância ativa	55
III.3.4. Estabilidade de emulsão	55
III.3.5. Persistência de espumas	56
III.3.6. Determinação da densidade	56
II.3.7. Determinação do pH a 1%	57
IV. Conclusão	59
V. Bibliografia	63
Anexo	69

Índice de figuras

Figura I.1 - Estrutura comum de um surfactante ⁴	4
Figura I.2 - Configurações típicas de micelas ⁴	6
Figura I.3 - Representação do ângulo de contacto entre as 3 fases num anti-espuma sólido para partículas de superfície lisa ¹³	8
Figura I.4 - Ilustração do mecanismo de (i) "bridging–stretching" (ii) e "bridging-dewetting" ¹³ ...	8
Figura I.5 - Processo de manufatura para a obtenção de uma molécula de nonilfenol condensado com n moles de óxido de etileno (etoxilado de nonilfenol) ²³	15
Figura I.6 - Dodecil benzeno sulfonato de cálcio	16
Figura I.7 - Óleo de ricino etoxilado ²⁶	16
Figura I.8 - Exemplo de copolímero em bloco constituído por blocos de OE e OP ¹²	17
Figura I.9 - Estrutura geral de um hexaoleato de sorbitol etoxilado ²⁹	17
Figura II.1 – Estrutura geral de uma avermectina ³⁰	21
Figura II.2 - Estrutura do BHT ³²	22
Figura II.3 - Cromatograma obtido por HPLC/MS do Vertimec Gold	23
Figura II.4 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD ($\lambda=254\text{nm}$) do Vertimec Gold	23
Figura II.5 - Espectro de massa para o Vertimec Gold obtido por HPLC/MS sem a utilização de coluna cromatográfica	24
Figura II.6 - Cromatograma de HPLC/MS do Atlas G-1096	25
Figura II.7 - Cromatograma de HPLC/MS do Alkamuls B	25
Figura II.8 - Cromatograma obtido por HPLC para o Rhodacal 70B a 0.04mg/mL	26
Figura II.9 - Cromatograma obtido para o Agnique® SLS 90 P através de cromatografia iónica	28
Figura II.10 - Espectro de massa do padrão de Vertimec Gold	33
Figura II.11 – Espectro de IV obtido para o Vertimec Gold	36
Figura II.12 – Espectro de IV obtido para a formulação	37
Figura II.13 - Cromatograma obtido por HPLC/MS e espectro de massa para os 2 picos assinalados (formulação)	38
Figura II.14 - Cromatograma obtido por HPLC/MS e espectro de massa para os 2 picos assinalados (Vertimec Gold)	38
Figura II.15 - Espectro de UV da Abamectina	39

Índice de tabelas

Tabela I.1- Tipos de formulações mais utilizados e códigos correspondentes ³	14
Tabela I.2- Constituição típica de um EC ³	15
Tabela II.1- Constituintes do Vertimec Gold descritos na FDS ³¹	21
Tabela II.2- Quantificação dos constituintes do Vertimec Gold identificados por GC	30
Tabela II.3 - %RSD e concentrações (%m/m) obtidas para os compostos a quantificar	32
Tabela II.4- Fórmula final para o Vertimec Gold	34
Tabela II.5- Áreas obtidas por HPLC-DAD para avaliação do teor no tempo T0 (amostra à temperatura ambiente após 14 dias) e T14 (amostra a 54°C durante 14 dias).....	40
Tabela II.6- Teores obtidos em % m/m nos testes de estabilidade (T0 e T14)	40
Tabela II.7 – Volume de espuma obtido no teste de persistência de espumas para as formulações (T0 e T14)	42
Tabela II.8 - Densidades determinadas para as formulações (T0 e T14)	43
Tabela II.9 - Valores de pH a 1% obtidos (T0 e T14)	44
Tabela III.1 - Gradiente utilizado no método de HPLC para identificação de surfactantes.....	48
Tabela III.2 - Gradiente utilizado em HPLC para a análise do Rhodacal 70B	49
Tabela III.3 - Diluições efetuadas para a reta de calibração de AAS	50
Tabela III.4- Preparação das soluções para quantificação por GC-FID	53
Tabela III.5 – Massa pesada para preparação das soluções de quantificação de Abamectina	55

Índice de abreviaturas e siglas

AAS – Espectroscopia de absorção atômica / *Atomic Absorption Spectroscopy*

ASTM - Sociedade Americana para Testes e Materiais / *American Society of Tests and Material*

ATR - Refletância total atenuada / *Attenuated Total Reflection*

BHT - 2,6-di-*tert*-butil-*p*-cresol

CIPAC – Conselho analítico colaborativo internacional de pesticidas / *Collaborative International Pesticides Analytical Council*

CMC – Concentração micelar crítica

DAD – Detetor de arranjo de díodos

Dyn/cm - Dine por centímetro, equivalente, no Sistema Internacional de Unidades a milinewton por metro

EC – Emulsão concentrada

EI – Ionização eletrônica / *Electronic Ionization*

ESI - Ionização por Electrospray / *Electrospray Ionization*

FAO – Food and Agriculture Organization

FDS – Ficha de dados de segurança

FID – Detetor de ionização de chama / *Flame Ionization Detector*

FTIR - Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier / *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

GC-FID – Cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama / *Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*

GC/MS – Cromatografia gasosa com detetor de espectrometria de massa / *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*

HLB- Balanço hidrofílico-lipofílico / *Hydrophilic-lipophilic balance*

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência / *High performance liquid chromatography*

HPLC-DAD – Cromatografia líquida com um detetor arranjo de díodos / *High-performance liquid chromatography with photodiode array detection*

HPLC/MS – Cromatografia líquida com detetor de espectrometria de massa / *High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*

IV – Infra-Vermelho

m/z – relação massa/carga / *Mass-to-charge ratio*

MS – Espectrómetro de massa / *Mass Spectrometer*

OE – Óxido de etileno

OP – Óxido de propileno

OW – Óleo em água / *Oil-in-water*

ppm – partes por milhão

R²- Coeficiente de determinação

RSD - Desvio padrão relativo / *Relative Standard Deviation*

TFA – Ácido trifluoracético / *Trifluoracetic Acid*

T0 – Amostra à temperatura ambiente

T7 – Amostra a 0°C durante 7 dias

T14 - Amostra a 54°C durante 14 dias

UV - Ultravioleta

WO – Água em óleo / *Water-in-oil*

I. Introdução

I. Introdução

I.1. Preâmbulo

O presente trabalho foi realizado no âmbito de um estágio curricular, realizado na empresa Sapec AGRO, localizada em Setúbal. Durante este período, fui inserida em diversos projetos, entre os quais a síntese de ingredientes ativos utilizados em agroquímicos, controlo de contaminações e o trabalho num laboratório regido pelos Princípios OCDE (Organisation for Economic Co-operation and Development) de Boas Práticas de Laboratório (BPL). Desta forma, encontra-se refletida neste trabalho, apenas uma pequena porção de todo o trabalho desenvolvido durante este período.

I.2. O grupo SAPEC

Em 1926 nasceu, através de Antoine Velge, o grupo SAPEC (Société Anonyme de Produits et Engrais Chimiques du Portugal). Este grupo foi criado originalmente com o propósito de explorar as minas de pirite do sul de Portugal mas, gradualmente, fez da produção e comercialização de adubos, agroquímicos, de sementes e rações para animais, a sua atividade principal. A Sapec AGRO, foi fundada posteriormente, em 1965, e é uma das empresas do grupo, sendo que a sua atividade se centra neste conjunto de atividades ligadas à agricultura, sendo que o seu negócio principal consiste na produção de agroquímicos. ¹

I.3. Engenharia Reversa

A engenharia reversa é o processo de extrair conhecimento através de algo realizado pelo homem. Esta pode ser comparada a uma dissecação de um animal: abre-se o objeto de estudo, separam-se os constituintes e estuda-se a composição química com o intuito de mimetizar ou, até mesmo, melhorar o que já foi feito. ²

A engenharia reversa é utilizada em vários setores da indústria, inclusive na indústria dos agroquímicos. As formulações mais complexas possuem produtos que podem conter inúmeros componentes, com grande variedade estrutural. Por esse motivo, a desconstrução de uma formulação pode ser tão ou mais difícil que o design de uma nova formulação.

Na área da produção de agroquímicos, a escolha do tipo formulação a utilizar para cada ingrediente ativo tem que ter como base uma série de fatores que se encontram interligados. Os fatores principais para a escolha de uma formulação são:

- Propriedades físico-químicas
- Atividade biológica e modo de ação
- Segurança na utilização
- Custos da produção
- Preferência do mercado

Assim que estes parâmetros são determinados, pode ser feita a seleção do tipo de formulação e dos excipientes a utilizar, incluindo surfactantes (emulsionantes, anti-espuma, molhantes, dispersantes, etc.) e outros aditivos, de modo a produzir uma formulação estável com uma validade de armazenamento mínima de 2 anos em diversas condições climáticas.³

I.4. Surfactantes

Os surfactantes são compostos orgânicos com, pelo menos, um grupo hidrofílico e hidrofóbico. Resumidamente, um surfactante contém pelo menos um grupo não polar e um grupo polar (ou iónico). Na figura I.1 encontra-se simplificada uma estrutura possível de um surfactante.⁴

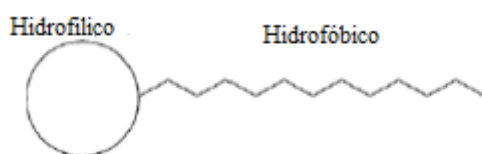


Figura I.1 - Estrutura comum de um surfactante⁴

I.4.1. Estrutura molecular

Dependendo do grupo hidrofílico, os surfactantes podem ser classificados da seguinte forma:

- Aniónicos
- Catiónicos
- Não-iónicos
- Anfotéricos

Os surfactantes aniónicos são os mais utilizados e baratos. A parte hidrofílica destes surfactantes encontra-se carregada negativamente.

Devido à carga positiva do grupo hidrofílico, os surfactantes catiónicos adsorvem a superfícies carregadas negativamente, como tecido, cabelo e membranas celulares das bactérias.

Os surfactantes não-iónicos não se dissociam em água e a cabeça hidrofílica apresenta carga neutra.

Os surfactantes podem ainda ser anfotéricos. Nestes casos, dependendo do pH, a porção hidrofílica destes compostos em água apresenta carga positiva, negativa ou ambas. Comportam-se como catiões em soluções ácidas, aniões em soluções básicas e zwitteriões a pH intermédio (ambos os grupos iónicos apresentam o mesmo nível de ionização e comportam-se como se não possuíssem carga).⁵

De uma forma geral, a parte mais extensa de um surfactante é o grupo hidrofóbico. A cadeia hidrofóbica da maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente (99%) são constituídos por cadeias de hidrocarbonetos e são sintetizados a partir de gordura de animais, óleos vegetais ou petroquímicos. Estas

cadeias podem ser lineares ou ramificadas e podem incluir hidrocarbonetos policíclicos, saturados, insaturados e estruturas de polioxipropileno.⁵

A biodegradabilidade é uma característica desejável nos surfactantes. Esta aumenta com o aumento da linearidade dos grupos hidrofóbicos e é reduzida pelas ramificações destes grupos, nomeadamente por carbonos quaternários. Visto que os surfactantes são utilizados em produtos ou processos com impacto ambiental, existem algumas preocupações relativamente à sua biodegradabilidade, toxicidade e ao efeito dos produtos resultantes da sua biodegradação em organismos marinhos e para nós, seres humanos. Como resultado destas preocupações por parte dos fabricantes, verificou-se um aumento na procura de novos surfactantes sintetizados a partir de fontes renováveis, os chamados surfactantes verdes.⁶

I.4.2. Atividade Superficial

Para que um composto seja classificado como surfactante, tem que apresentar atividade superficial. Isto significa que, quando o composto é adicionado em baixa concentração a um líquido, este tem que ser capaz de adsorver à superfície ou à interface do sistema. A superfície é definida como a fronteira entre o ar e o líquido e, a interface, o limite entre duas fases imiscíveis (líquido-líquido, líquido-sólido e sólido-sólido).

A atividade superficial é, normalmente, atingida quando o número de átomos de carbono na porção hidrofóbica é > 8 . A atividade de um surfactante é máxima quando o nº de átomos de carbono se encontra entre 10 e 18. A este nível, o surfactante tem boa mas limitada solubilidade em água. Se o nº de átomos de carbono é < 8 (muito solúvel em água) ou > 18 (insolúvel em água), as propriedades do surfactante são mínimas.⁵

I.4.3. Adsorção e micelização

As forças opostas presentes nas moléculas de surfactantes resultam em dois fenómenos diferentes: adsorção e agregação:

Adsorção

Em meio aquoso, as moléculas de surfactante migram para as interfaces ar/água e sólido/água e orientam-se de modo a minimizar, tanto quanto possível, o contacto entre os seus grupos hidrofóbicos e a água.⁴

Os mecanismos de adsorção de surfactantes às interfaces, têm sido extensamente estudados, com o objetivo de compreender os seus comportamentos em vários processos como a dispersão (interface líquido-sólido), emulsificação (interface líquida-líquida) e formação de espuma (interface líquido-gás)⁷.

Micelização

Outra alternativa que permite limitar o contacto entre os grupos hidrofóbicos das moléculas de surfactante e a água, é a agregação destas moléculas na solução, com os grupos hidrofílicos orientados para a fase aquosa. Estes agregados são conhecidos como micelas e normalmente apresentam-se sobre a forma cilíndrica, lamelar ou esférica (figura I.2).⁴

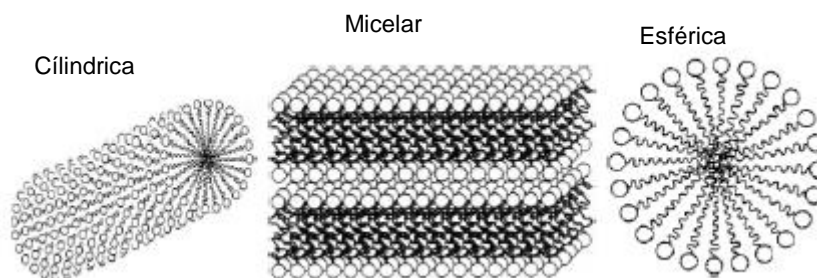


Figura I.2 - Configurações típicas de micelas⁴

As micelas são formadas através do balanço entre forças opostas: as interações hidrofóbicas positivas, que proporcionam a força motriz necessária para a micelização e forças repulsivas entre grupos polares (iônicos), que limitam o tamanho das micelas.⁸

A concentração à qual estas se formam, é denominada concentração micelar crítica (CMC) e esta é uma propriedade de cada surfactante. Acima desta concentração, a tensão superficial deixa de diminuir com o aumento da concentração de surfactante, tornando-se constante. Consequentemente, não se verificam diferenças significativas nas propriedades surfactantes em solução. As micelas não afetam a tensão superficial e, qualquer aumento na concentração de surfactante não afeta o número de monómeros na solução, afetando apenas a estrutura das micelas.⁹

As características de micelização em solução dependem das estruturas químicas dos surfactantes e das propriedades físico-químicas da solução, como por exemplo concentração, temperatura e pela presença de aditivos. Uma das formas de modular a estrutura das micelas, é através da adição de hidrótropos. Os hidrótropos são compostos orgânicos que contêm grupos hidrofóbicos pequenos, cíclicos ou ramificados e são muito utilizados¹⁰ devido à sua capacidade de dissolver compostos orgânicos que seriam insolúveis sem a sua presença.⁸

I.4.4. Propriedades

Os surfactantes podem atuar como:

Molhantes

O termo molhante é, geralmente, aplicado à remoção de ar de uma superfície sólida ou líquida pela água ou através de uma solução aquosa. O termo agente molhante é aplicado a qualquer substância capaz de

reduzir a tensão superficial da água, aumentando a capacidade desta de remover ar de uma superfície líquida ou sólida.¹¹

Uma vez que a água tem uma tensão superficial elevada (72 dyn/cm), esta não se propaga espontaneamente por sólidos covalentes, sobretudo com propriedades apolares. Por esse motivo, a adição de um agente capaz de modificar a tensão interfacial do sistema é necessária, de modo a possibilitar o humedecimento do sólido através da água.¹¹

Quanto menor a cadeia hidrofóbica, maior a velocidade de difusão e, como consequência, melhor a capacidade molhante do surfactante.¹² Mas, no entanto, com o aumento da temperatura da água, o comprimento da cadeia hidrofóbica deve aumentar também, de modo a que o surfactante apresente uma boa capacidade molhante. Tal facto, deve-se provavelmente ao aumento de solubilidade por parte do surfactante e o consequente decréscimo na tendência de migração para a interface. Por esse motivo, por exemplo para uma temperatura de 60°C, o composto $C_{16}H_{33}SO_4Na^+$ apresenta uma maior capacidade molhante que o composto $C_{12}H_{25}SO_4Na^+$.¹¹

A introdução de um segundo grupo hidrofílico iónico na molécula é, normalmente, desfavorável para a sua capacidade de atuar como molhante.¹¹

Anti-Espuma

Quando se verifica a formação de elevada quantidade de espuma e não é possível reduzi-la através da substituição do surfactante por um que produza menos espuma, ou quando a espuma é parcial ou inteiramente criada por componentes não-surfactantes na solução, são utilizados agentes anti-espuma. O modo de ação de um surfactante na destruição de espuma depende do tipo de anti-espuma utilizado (líquido, sólido ou uma mistura dos dois).¹³

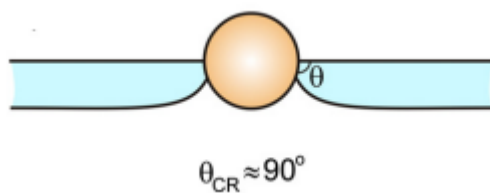
Modo de ação de um anti-espuma sólido

As partículas sólidas destroem a espuma por um mecanismo que consistem em duas fases principais:

- (i) As partículas sólidas entram em contacto com duas superfícies opostas da espuma, formando uma ponte sólida entre estas
- (ii) O líquido desumidifica a superfície da partícula e a espuma é perfurada na linha de contacto entre a superfície da partícula sólida, o ar e o líquido.

A eficiência na utilização de partículas sólidas como agentes anti-espuma, depende maioritariamente da sua hidrofobicidade, forma e tamanho.

Para uma desumidificação total da partícula sólida com uma superfície de contacto lisa e convexa (esferas e elipsoides), o ângulo de contacto entre as três fases deve ser maior que 90° (figura I.3). Para partículas de arestas pontiagudas (cubos, prismas, etc.) as espumas podem ser destruídas mesmo para ângulos de contacto inferiores – por volta dos 30-40°.¹³



Legenda:

Θ_{CR} = ângulo de contacto

Figura I.3 - Representação do ângulo de contacto entre as 3 fases num anti-espuma sólido para partículas de superfície lisa¹³

Modo de ação de um anti-espuma sob a forma de gotas de óleo

Existem diversos mecanismos comprovados cientificamente para a destruição de espumas utilizando um anti-espuma sob a forma de óleo, como por exemplo o mecanismo “bridging-stretching” (figura I.4 (i)) e “bridging dewetting” (figura I.4 (ii)). Em qualquer um destes mecanismos, as gotas de óleo ligam-se às duas superfícies (ar e líquido), fazendo uma ponte entre elas. De seguida, existem duas formas de destabilização possíveis:

- (i) Deformação no caso do mecanismo “bridging-stretching” dando origem a um ângulo de contacto entre as 3 fases satisfatório
- (ii) No mecanismo “bridging-dewetting” a ponte não tem tempo para se deformar e a superfície da espuma desumidifica a superfície da gota de óleo, originando a rutura da espuma na periferia da ponte de óleo¹³

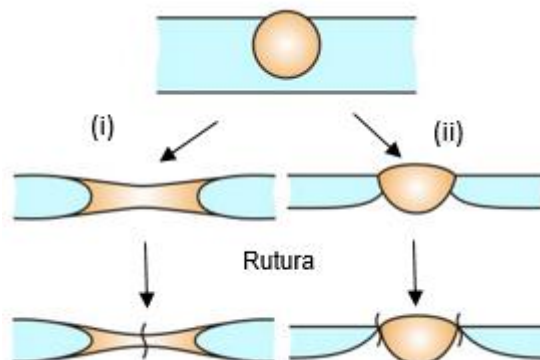


Figura I.4 - Ilustração do mecanismo de (i) “bridging-stretching” (ii) e “bridging-dewetting”¹³

Emulsionantes

Emulsificação - a formação de emulsões a partir de dois líquidos imiscíveis – é provavelmente uma das propriedades mais versáteis dos surfactantes e, como resultado, é uma das propriedades mais estudadas

Dois líquidos puros imiscíveis não podem formar uma emulsão. Para que a suspensão de um líquido noutro seja estável de modo a ser classificada como emulsão, é necessária a presença de um terceiro

componente para estabilizar o sistema, denominado agente emulsionante. Não é necessário que o agente emulsionante seja uma substância individual, de facto, a grande maioria dos agentes emulsionantes é uma mistura de duas ou mais substâncias.

A correlação entre a estrutura química de um surfactante e o seu poder emulsionante é complicada visto que ambas as fases, óleo e água, têm composição variável. Adicionalmente, a concentração à qual o agente emulsionante é utilizado, determina não só o seu poder emulsionante mas ainda o tipo de emulsão formada (OW – óleo em água ou WO – água em óleo). Como resultado da necessidade de ter em consideração a composição de ambas as fases e a concentração do agente emulsionante, não é possível avaliar surfactantes específicos em função da sua capacidade como emulsionante. No entanto, existem algumas orientações que podem ser úteis na seleção de emulsionantes:

- (i) Agentes emulsionantes que são preferencialmente solúveis em óleo formam emulsões WO
- (ii) A utilização de uma mistura de surfactantes solúveis em óleo e surfactantes solúveis em água, produzem normalmente boas emulsões e mais estáveis que a utilização de um surfactante individual.
- (iii) Quanto mais polar a fase constituída por óleo, mais hidrofílico o emulsionante deve ser; quanto maior o carácter não polar do óleo a ser emulsionado, mais lipofílico o emulsionante deve ser.¹⁴

Esta generalização é a base para um número de métodos de minimização de trabalho na seleção do agente, ou combinação de agentes emulsionantes para um sistema particular.¹⁴

Surfactantes não iónicos, copolímeros em bloco e outros surfactantes poliméricos são os mais utilizados na produção de emulsões estáveis. No caso de surfactantes não iónicos, o balanço entre o tamanho e a força do grupo hidrofílico e hidrofóbico (ou lipofílico) é denominado balanço hidrofílico-lipofílico (HLB). Segundo este balanço, cuja escala varia entre 0 e 20, um surfactante com carácter lipofílico apresenta um número de HLB baixo (3-6) enquanto que um surfactante com carácter hidrofílico apresenta um número mais elevado (8-18).¹⁵ O número de HLB é um guia pouco robusto na seleção de emulsionantes: O número HLB não é indicativo da eficiência (concentração necessária de emulsionante a utilizar) e eficácia (estabilidade da emulsão). Dados experimentais mostram que mesmo como indicativo do tipo de emulsão que se pode esperar, o número de HLB não pode ser considerado um indicativo¹⁴. Diversos estudos afirmam que um surfactante em particular, pode produzir uma emulsão WO ou OW, dependendo da temperatura à qual a emulsão é preparada ou do rácio surfactante-óleo. Um exemplo disso, são as emulsões OW, que podem ser preparadas com determinados surfactantes numa extensão de número HLB de 2 até 17.¹⁴

Dispersantes

Em muitos produtos e processos, é importante a obtenção de dispersões estáveis e uniformes de sólidos. As propriedades dispersantes de um surfactante, são aquelas que permitem a sua adsorção a partículas sólidas e que produzem, através desta adsorção, barreiras energéticas suficientemente altas para dispersar a partícula num meio líquido (normalmente aquoso). Surfactantes com estas características denominam-se agentes dispersantes.

Apesar do humedecimento da partícula sólida ser um passo necessário no processo de dispersão, um surfactante que apenas atua como agente molhante sem aumentar a barreira energética de modo a dispersar a partícula, não possui capacidade de atuar como agente dispersante neste sistema mas, apenas como agente molhante. Por outro lado, um surfactante que não promove o humedecimento das partículas sólidas mas, ainda assim, produz barreiras energéticas suficientemente altas para a dispersão das partículas é considerado um agente dispersante. Existem surfactantes com a capacidade de demonstrar poder molhante e dispersante num sistema particular, mas os agentes molhantes são normalmente adicionados aos agentes dispersantes de modo a compensar a sua falta de capacidade molhante.¹⁶

Para a formação de barreiras elétricas à agregação, são utilizados normalmente surfactantes iónicos. Quando o sólido a ser disperso é essencialmente não polar e o meio de dispersão é aquoso, podem ser utilizados surfactantes convencionais (contendo um grupo hidrofílico terminal e uma cadeia longa hidrofóbica) pois a adsorção do ião à superfície das partículas sólidas não carregadas, faz com que estas adquiram carga do mesmo sinal e se repulsem mutuamente, formando uma barreira elétrica de agregação. Para além disso, os agentes dispersantes adsorvidos estarão orientados com os seus grupos hidrofóbicos na direção das partículas não polares e as cabeças hidrofílicas em direção da fase aquosa, produzindo uma tensão interfacial sólido-líquido baixa.¹⁶ Visto que neste caso, a eficiência da adsorção aumenta com o aumento do comprimento do grupo hidrofóbico, compostos de cadeia mais longa são agentes dispersantes mais eficientes para este tipo de partícula.

Quando o sólido a ser disperso é carregado, os surfactantes convencionais podem não ser úteis pois, utilizando surfactantes com carga oposta, pode ocorrer floculação ao invés de dispersão até que a carga das partículas sólidas seja neutralizada. Nestes casos, a dispersão apenas ocorre quando há a adsorção dos iões adicionais a partículas agora sem carga.

Por outro lado, a utilização de um surfactante convencional, com a mesma carga que as partículas sólidas origina repulsão entre o ião do surfactante e a partícula carregada, inibindo a adsorção.

Como resultado, os agentes dispersantes iónicos, para utilizar com sólidos polares em meio aquoso, normalmente possuem grupos iónicos em várias posições da molécula de surfactante e grupos hidrofóbicos com estruturas polarizadas.¹⁶

Na presença de surfactantes não iónicos, a estabilização da carga não é possível. Nestes casos, é necessário recorrer à estabilização estereoquímica de modo a manter as partículas dispersas. A estabilização estereoquímica baseia-se na adsorção de cadeias de polímero na superfície da partícula sólida. À medida que as partículas sólidas se aproximam umas das outras, as cadeias poliméricas adsorvidas misturam-se, perdendo o grau de liberdade anteriormente possuído. Em termos termodinâmicos, este facto é expresso por uma redução da entropia, que é desfavorável e fornece a barreira necessária para evitar a atração das partículas sólidas.¹⁶

I.4.5. Identificação e quantificação

Identificação

A identificação de surfactantes requiere a utilização de técnicas cromatográficas, sendo que as mais utilizadas são cromatografia gasosa e cromatografia líquida. Um dos desafios principais na análise de surfactantes prende-se ao facto de, muitas vezes, estes compostos se encontrarem em quantidades vestigiais. Para estes casos, é necessário desenvolver técnicas de extração e de purificação, com o objetivo de remover o maior número possível de interferências.¹⁷

A técnica mais utilizada para a separação e análise de misturas de surfactantes comerciais é HPLC (Cromatografia líquida de alta eficiência) Esta técnica, comparativamente a GC (Cromatografia Gasosa), tem a vantagem de ser adequada para a análise de compostos não-voláteis. Colunas de fase reversa RP-18 são muito utilizadas para a separação de surfactantes aniónicos, catiónicos e não-iónicos.¹⁷

Existem vários detetores utilizados em HPLC, como por exemplo detetores de DAD (detetor de arranjo de diodos) e de MS (espectrometria de massa). Um detetor de DAD permite que a absorvância de uma amostra seja determinada para todos os comprimentos de onda em simultâneo. Esta técnica apenas pode ser aplicada para moléculas que apresentam cromóforos sendo que, para moléculas que não possuam estes grupos, uma alternativa é a utilização de um detetor de MS.

O detetor de ionização de chama (FID) é um dos detetores mais utilizados em cromatografia gasosa. Num FID, a amostra sofre combustão numa chama de ar/hidrogénio. A chama possibilita a formação de iões e eletrões livres. As partículas carregadas produzem um fluxo de corrente entre os dois elétrodos no detetor e o fluxo de corrente resultante apresenta um sinal mais forte que o sinal produzido pelo gás de arraste e a chama do gás de combustão, dando origem a um pico no cromatograma.¹⁸

Para a análise de surfactantes catiónicos ou aniónicos, pode ainda utilizar-se cromatografia iónica.

Em cromatografia iónica, são utilizadas resinas de permuta iónica para separar iões atómicos ou moleculares com base na sua interação com a fase estacionária. Nesta técnica, os iões da amostra são transportados através do fluxo do eluente para uma coluna cromatográfica, onde ocorre a interação dos iões presentes na coluna com os iões de carga oposta presentes na amostra. Desta forma, os iões chegam em diferentes alturas ao supressor, de acordo com a sua afinidade com os iões da coluna. Podem ser utilizados diversos detetores, como por exemplo detetores de condutividade, electroquímicos ou de índice de refração. No caso dos detetores de condutividade, estes medem a condutividade eletrolítica dos iões, o supressor tem a funcionalidade de suprimir a condutividade do eluente e aumentar a sensibilidade dos iões da amostra.¹⁹

Apesar do potencial de aplicação desta técnica na análise de surfactantes iónicos, existem muito poucas publicações sobre este tema.

Outra alternativa é a espectroscopia de absorção atómica de chama (AAS) para a deteção e quantificação de determinados compostos catiónicos.

A absorção atômica é um processo que envolve a absorção de átomos livres de um elemento, ao comprimento de onda específico desse elemento. A espectroscopia de absorção atômica é útil não só para a identificação de elementos químicos em amostras mas também para a sua quantificação. Esta técnica é específica para a identificação de elementos individuais, visto que cada elemento absorve a um comprimento de onda específico onde mais nenhum elemento absorve e é sensível, permitindo a detecção de pequenas quantidades: cerca de 1ppm.²⁰

Quando uma amostra é queimada por uma chama ou aquecida num tubo, os átomos individuais da amostra são libertados. Cada átomo consiste num núcleo carregado positivamente, rodeado por eletrões. Para cada eletrão em cada átomo, existe um conjunto de níveis energéticos que o eletrão pode ocupar.²⁰

Alguns dos elementos passíveis de serem analisados por esta técnica são: cálcio, sódio, potássio, ferro, zinco, selénio, cádmio, chumbo, cobre e manganês.

Quantificação

Para uma correta quantificação de excipientes, são injetados padrões a diferentes concentrações, com o objetivo construir uma reta de calibração com, pelo menos, três pontos: L1, L2 e L3. Através dos dados extraídos da equação da reta, é calculada a concentração do analito de interesse na amostra, através da equação I.1.

$$[\text{Matéria Ativa}](\%p/p) = \frac{A_{\text{amostra}} - b}{m * C_{\text{amostra}}} \quad (I.1)$$

Sendo:

A_{amostra} = Área da amostra

C_{amostra} – Concentração da amostra $\left(\frac{mg}{mL}\right)$

b – Valor da interseção da reta na origem

m – declive da reta

Nos casos em que a quantificação é realizada utilizando apenas uma concentração de padrão,, é calculado o respetivo fator de resposta através da equação I.2.

$$F_R = \frac{A_p}{C_p} \quad (I.2)$$

Sendo:

F_R – Fator de resposta para uma dada ingrediente ativo;

A_p – Área do pico do ingrediente ativo.

C_p – Concentração do ingrediente ativo da solução padrão de calibração (mg/mL)

A concentração de cada composto é então calculada, tendo em consideração o fator de resposta médio. A concentração de cada ingrediente ativo na amostra é determinada de acordo com a equação I.3.

$$[\text{Matéria Ativa}](\%p/p) = \frac{A_{\text{amostra}} * 100}{F_{R\text{médio}} * C_{\text{amostra}}} = \frac{A_{\text{amostra}} * 100 * C_p}{A_p * C_{\text{amostra}}} \quad (I.3)$$

Sendo:

A_{amostra} – Área de pico da ingrediente ativo em análise na amostra

$F_{R\text{médio}}$ – Fator de resposta médio da ingrediente ativo em análise

C_{amostra} – Concentração da amostra (mg/mL)

A_p – Área do pico de ingrediente ativo

C_p – Concentração da ingrediente ativo da solução padrão (mg/mL)

I.5. Formulações

Devido à enorme variedade de ingredientes ativos utilizados nos agroquímicos, foram desenvolvidos diferentes tipos de formulações, dependendo essencialmente das propriedades físico-químicas dos ingredientes ativos.

A organização CropLife International, baseada em Bruxelas, Bélgica lista cerca de 80 tipos de formulação. Os tipos de formulações mais utilizados encontram-se listados na tabela I.1. ³

Tabela I.1- Tipos de formulações mais utilizados e códigos correspondentes ³

Tipo de formulação	Código
Pó Polvilhavel	DP
Grânulos	GR
Solução concentrada	SL
Emulsão concentrada	EC
Pós molháveis	WP
Suspensões concentradas	SC
Emulsão óleo-em-água	OW
Emulsão água-em-óleo	WO
Suspo-emulsões	SE
Microemulsões	ME
Grânulos dispersíveis em água	WG
Suspensão de Capsulas	CS

É possível verificar pela análise da tabela 1, que tem havido uma enorme evolução na gama de formulações disponíveis no mercado. As emulsões concentradas (EC) continuam a ser muito utilizadas a nível mundial, devido ao seu simples processo de produção e ao seu baixo custo,²¹ sendo este o tipo de formulação estudado no presente trabalho. Os surfactantes mais utilizados nesta formulação são dispersantes e molhantes.

I.5.1. Emulsão concentrada (EC)

Numa emulsão concentrada, o ingrediente ativo tem que ser quimicamente estável e solúvel nos solventes utilizados. No passado, um dos solventes mais utilizados neste tipo de formulação era o xileno no entanto, o uso deste solvente encontra-se restrito em alguns países. Atualmente os solventes mais utilizados são óleos minerais, provenientes da refinação do petróleo, como por exemplo o solvesso. A gama solvesso é constituída por misturas de hidrocarbonetos aromáticos, sendo que o tamanho das cadeias dos hidrocarbonetos é variável: o solvesso é comercializado como solvesso 100, 150, 200 ou 250 sendo que o solvesso 100 possui hidrocarbonetos de cadeia mais curta e o solvesso 250 uma mistura de hidrocarbonetos de cadeia mais longa.²² Estes solventes aromáticos são bastantes utilizados neste tipo de formulados, devido ao razoável poder de solvência dos vários ingredientes ativos e baixo custo. Quando a solubilidade dos ingredientes ativos em solventes aromáticos não é suficiente para obter um conteúdo em ingrediente ativo adequado, é necessário adicionar co-solventes nos quais os ingredientes ativos sejam mais solúveis. Nestes casos, é usual usar os óleos minerais como componente de balanço da formulação devido ao seu baixo custo.

Na tabela I.2 encontra-se a proporção de ingredientes comum numa emulsão concentrada.³

Tabela I.2- Constituição típica de um EC³

	% m/m
Ingrediente ativo	20-70
Mistura de emulsionantes	5-10
Solvente	Até 100
Co-solvente	ND*

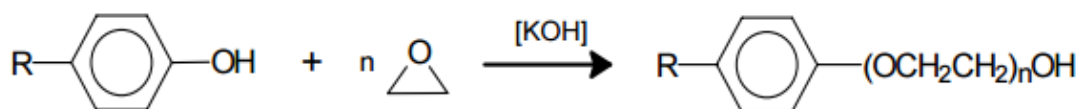
*ND – Não definido

Os emulsionantes são adicionados a esta formulação de forma a garantir uma emulsão espontânea e estável aquando a formação da calda de aplicação. A escolha de um par equilibrado de emulsionantes é necessária para garantir a estabilidade da emulsão diluída, para diferentes graus de dureza da água e a sua miscibilidade em água, visto que os EC's são maioritariamente compostos por solventes apolares.³

Uma propriedade importante que permite avaliar a qualidade da emulsão é o Bloom. Este consiste na emulsificação rápida e completa em água com o mínimo de agitação.

A utilização de emulsionantes não iónicos, é favorecida na presença de água dura comparativamente à utilização de emulsionantes aniónicos. Isto acontece pois a água dura é rica em iões, como por exemplo Mg^{2+} e Ca^{2+} , que tendem a ligar-se à carga negativa hidrofílica das moléculas dos emulsionantes aniónicos, o que pode causar precipitação destas diminuindo assim a sua eficiência.

A formulação de ECs têm sido facilitada pelo desenvolvimento nos últimos 20 anos por emulsionantes não-iónicos no qual a porção hidrofílica da molécula consiste numa cadeia de óxido de etileno. O surfactante não iónico mais utilizado no passado consistia numa cadeia hidrofóbica de nonilfenol – que pertence à família dos alquilfenós- condensado com 12 ou mais moles de óxido de etileno (figura I.5).³



R= C₉H₁₉ ramificado ou linear

Figura I.5 - Processo de manufatura para a obtenção de uma molécula de nonilfenol condensado com n moles de óxido de etileno (etoxilado de nonilfenol)²³

Apesar da biodegradação destes compostos ser rápida, esta gera metabolitos mais tóxicos e persistentes como por exemplo o nonilfenol. Recentemente, foram realizados estudos que provam que estes produtos, resultantes da biodegradação dos etoxilados de nonilfenol, possuem propriedades de desregulação endócrina e são responsáveis pela feminização e carcinogénese em organismos vivos.²⁴

Por esse motivo, condensados de óxido de etileno que têm como base álcoois alifáticos têm sido bastante utilizados bem como óleos de rícino etoxilados que são utilizados como emulsionantes não iônicos.

Os emulsionantes mais utilizados na formulação de um EC são:

Emulsionantes aniônicos para concentrados à base de solvente

- Sais de cálcio ou amina de alquilarilsulfonatos lineares ou ramificados: como por exemplo o Dodecil benzeno sulfonato de cálcio (figura I.6)

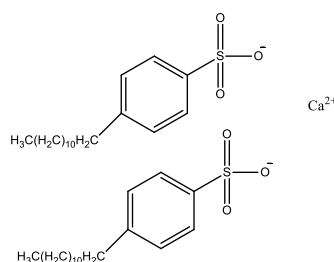


Figura I.6 - Dodecil benzeno sulfonato de cálcio

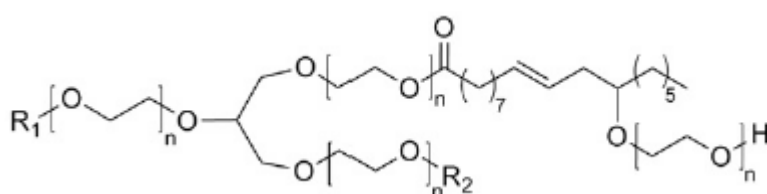
Emulsionantes não iônicos

- Etoxilados de álcoois alifáticos

Estes compostos têm como fórmula geral $C_nH_{2n+1}(OCH_2CH_2)_xOH$ e são misturas que podem incluir milhares de componentes. Estes são preparados através da adição de óxido de etileno a álcoois alifáticos. Consequentemente, o produto final consiste em vários compostos homólogos com cadeias alifáticas de diferentes comprimentos (normalmente entre os 8 e os 18 átomos de carbono). Para além disso, o resultado obtido não são homólogos com um comprimento de cadeia de óxido de etileno definida, mas sim uma distribuição de oligomeros (entre 1 e 30 unidades de etoxi) para cada homólogo. ²⁵

- Etoxilados de óleo de rícino

O óleo de rícino etoxilado é produzido através do óleo de rícino que é composto por 90% de ácido ricinoleico insaturado (C:18) – figura I.7. ²⁶



R₁ e R₂ podem corresponder a ácido ricinoleico, oleico, esteárico e dihidroxiestéarico

Figura I.7 - Óleo de rícino etoxilado²⁶

-Copolímeros de óxido de etileno (OE) e de óxido de propileno (OP)

Os copolímeros em bloco de óxido de etileno e de propileno são um dos surfactantes poliméricos mais utilizados. A característica principal de materiais poliméricos são as suas propriedades de adsorção na interface entre duas substâncias imiscíveis.²⁷

Estes copolímeros podem conter blocos de óxido de etileno e de óxido de propileno em diversas ordens. Um exemplo de uma estrutura utilizada encontra-se na figura I.8.¹⁶

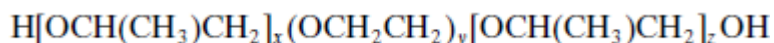


Figura I.8 - Exemplo de copolímero em bloco constituído por blocos de OE e OP¹²

No exemplo a figura I.8, o bloco de OE é central e encontra-se rodeado por cadeias de OP no entanto, dependendo das características desejadas a ordem dos polímeros é variável.

Dos surfactantes mencionados, os copolímeros são também utilizados como dispersantes²⁸. Outro exemplo de dispersantes utilizados em ECs são os hexaoleatos de sorbitol etoxilados (figura I.9).

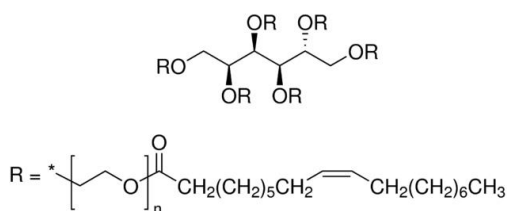


Figura I.9 - Estrutura geral de um hexaoleato de sorbitol etoxilado²⁹

As principais vantagens na utilização de ECs comparativamente a outros tipos de formulações são:

- Baixo custo de produção
- Tecnologia simples
- Boa atividade biológica

Desvantagens:

- Grandes quantidades de solvente
- Baixo ponto de inflamação
- Alta toxicidade²¹

II. Discussão

II. Discussão

Com o objetivo de proteger a fórmula utilizada, as empresas de agroquímicos apenas descrevem na FDS (Ficha de dados de segurança) os componentes obrigatórios por lei, o que se pode dever, por exemplo, à sua toxicidade. Um ponto de partida para a descoberta de uma fórmula é a pesquisa das FDS do produto em diversos países pois, como cada país tem a sua própria legislação, é possível reunir diferentes informações para a mesma formulação.

O Vertimec Gold é um agroquímico lançado pela primeira vez no mercado em 1985 pela Syngenta. É um inseticida e a ingestão do seu ingrediente ativo, Abamectina, resulta na paralisia e subsequente morte de ácaros e insetos. Deve ser aplicado em culturas de citrinos, algodão, vegetais e pomóideas (como por exemplo pereiras e macieiras). A Abamectina é uma mistura de avermectinas (figura II.1), contém uma percentagem de Avermectina B_{1A} superior a 80% e uma percentagem de Avermectina B_{1B} inferior a 20% ³⁰

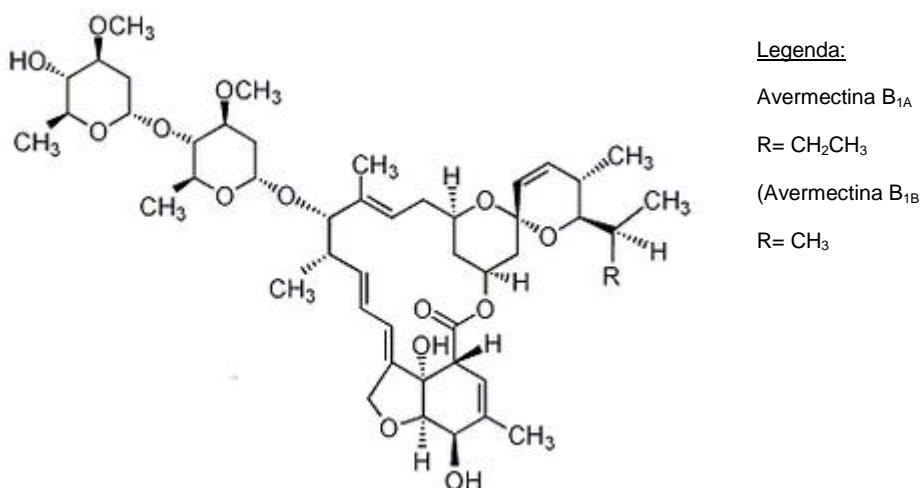


Figura II.1 – Estrutura geral de uma avermectina³⁰

Na FDS da Holanda deste produto, estão discriminados alguns dos constituintes da formulação (tabela II.1).³¹

Tabela II.1- Constituintes do Vertimec Gold descritos na FDS³¹

Designação	Concentração (% m/m)
Ciclo-hexanol	50-70
1,2-propanodiol	10-20
Abamectina	1,8
2,6-di- <i>tert</i> -butil- <i>p</i> -cresol	1-5

O Vertimec Gold é um EC (emulsão concentrada) que consiste numa formulação à base de solvente, neste caso o ciclo-hexanol. O 1,2-propanodiol é utilizado como co-solvente. Estes são utilizados normalmente com o objetivo de melhorar a solubilidade do ingrediente ativo na formulação.

O BHT– figura II.2 - é um antioxidante utilizado com o objetivo de evitar a peroxidação lipídica. Este antioxidante é muito utilizado devido à sua estabilidade química, baixo custo e disponibilidade. ³²

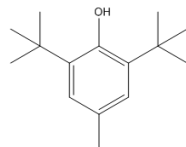


Figura II.2 - Estrutura do BHT³²

Visto que a informação contida na FDS não refere valores específicos para a concentração de alguns dos componentes da formulação, é necessário quantificá-los de forma precisa. É ainda necessário pesquisar a presença de surfactantes, visto que as suas propriedades são fundamentais no desenvolvimento de uma boa formulação.

II.1. Identificação de surfactantes

Numa tentativa de identificar e quantificar os surfactantes presentes no Vertimec Gold, realizaram-se técnicas de espectroscopia (absorção atômica) e cromatografia (iônica e líquida).

Os detetores utilizados na análise de cromatografia líquida – HPLC – foram DAD e MS. O analisador de massa utilizado foi um ion-trap. Este tem a vantagem de aprisionar iões por períodos de tempo relativamente longos com consequências fundamentais: a utilização mais simples consiste em ejetar sequencialmente os eletrões aprisionados de forma a produzir um espectro de massa convencional. Para tal, utiliza-se uma voltagem de radiofrequência fixa em que todos os iões acima de um determinado rácio limite de m/z são aprisionados. À medida que a radiofrequência aumenta, o valor limite de m/z aumenta também de um modo controlado e os iões aprisionados são ejetados sequencialmente e detetados. O resultado é um espectro de massa padrão e este método denomina-se “instabilidade seletiva de massas”. Outra utilização deste analisador de massas é o modo de monotorização seletiva de iões (SIM), que consiste na monotorização de iões previamente selecionados, que são característicos do analito de interesse. Podem ser selecionados um ou mais iões, sendo que não existe um limite prático do número de iões a selecionar. ³³

A técnica de ionização utilizada foi ESI (Ionização por Electrospray). Nesta técnica, a ionização pode ser negativa, onde os iões observados correspondem a $[M-H]^-$ ou positiva. No caso da ionização positiva, podem ser observados diversos iões para o mesmo fragmento: $[M+H]^+$ ou $[M+Na]^+$, no caso do catião ser hidrogénio ou sódio, respetivamente³³, podendo ainda ser observados outros iões, dependendo da fase móvel. No caso do presente trabalho, a fase móvel contém amónia o que possibilita a observação do ião $[M+NH_4]^+$.

A análise de surfactantes contidos no Vertimec Gold foi inicialmente realizada através de HPLC, de duas formas distintas: com a utilização de coluna cromatográfica e sem a utilização desta.

Sem a utilização de coluna, o tempo de análise é bastante reduzido, sendo que o método utilizado neste trabalho tem uma duração de um minuto por amostra. Esta técnica não permite a separação dos diferentes compostos dentro da mesma amostra o que pode ser uma desvantagem, dependendo do objetivo pretendido.

Por outro lado, como a grande maioria dos surfactantes são uma mistura de vários compostos, com recurso a uma coluna cromatográfica, por vezes obtém-se um cromatograma complexo e de difícil análise, devido à quantidade de picos observados. Como exemplo, temos o cromatograma obtido para o Vertimec Gold por HPLC/MS (figura II.3).

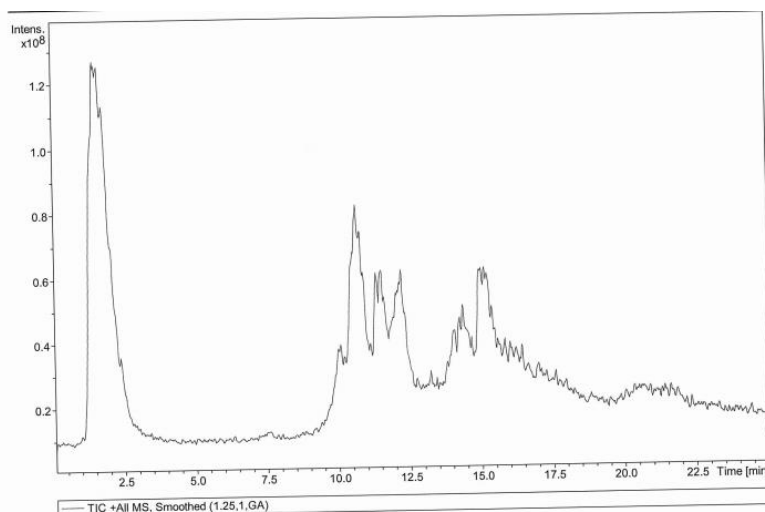


Figura II.3- Cromatograma obtido por HPLC/MS do Vertimec Gold

Possivelmente, devido à ausência de cromóforos, ou à sua existência em pequena escala, no cromatograma de HPLC-DAD obtido na mesma análise para $\lambda=210, 220, 245, 254$ e 280nm (comprimentos de onda que foram monitorizados), apenas é possível observar um pico que se verificou, através do seu espectro de UV, tratar-se da Abamectina (figura II.4).

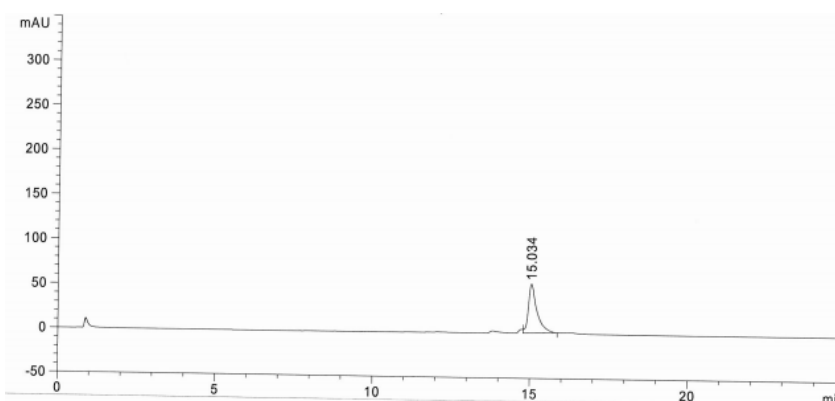


Figura II.4 – Cromatograma obtido por HPLC-DAD ($\lambda=254\text{nm}$) do Vertimec Gold

Devido à necessidade de analisar surfactantes noutros projectos foi, previamente, criada uma biblioteca interna de espectros de massa para cerca de 200 surfactantes, sem a utilização de coluna cromatográfica. Comparando cada um dos picos observados na figura II.3 com a base de dados de surfactantes criada, não resulta nenhuma correspondência. Isto pode ocorrer no caso dos surfactantes presentes na amostra serem uma mistura de vários compostos pois, na construção da biblioteca espectral, foi adicionado à biblioteca um único espectro de massa para cada surfactante.

Este resultado motra a necessidade de analisar o Vertimec Gold nas mesmas condições em que foi criada a biblioteca. Para que tal seja possível, foi necessário fazer a preparação da amostra, de modo a eliminar o número máximo de interferentes, como por exemplo a matéria ativa, a Abamectina e, assim, obter uma matriz mais limpa para analisar. A preparação da amostra está dependente do tipo de formulação: neste caso, como a formulação tem como base um solvente parcialmente miscível com água, recorreu-se a extração líquido-líquido utilizando água e diclorometano. Como a solubilidade da Abamectina em água é baixa, 1.21 ± 0.15 mg/L a pH 7.57 (25°C) ³⁰, é esperado que grande parte deste composto fique na fase orgânica enquanto que, na fase aquosa fiquem os surfactantes, que são normalmente bastante solúveis em água.

Na figura II.5 encontra-se o espectro de massa do Vertimec Gold, analisado com ionização positiva, obtido após extração líquido-líquido e sem a utilização de coluna cromatográfica. Através da comparação do espectro de massa obtido com a biblioteca de espectros, foram identificados no Vertimec Gold os surfactantes Alkamuls B e Atlas G-1096, cujos espectros de massa se encontram no anexo A.

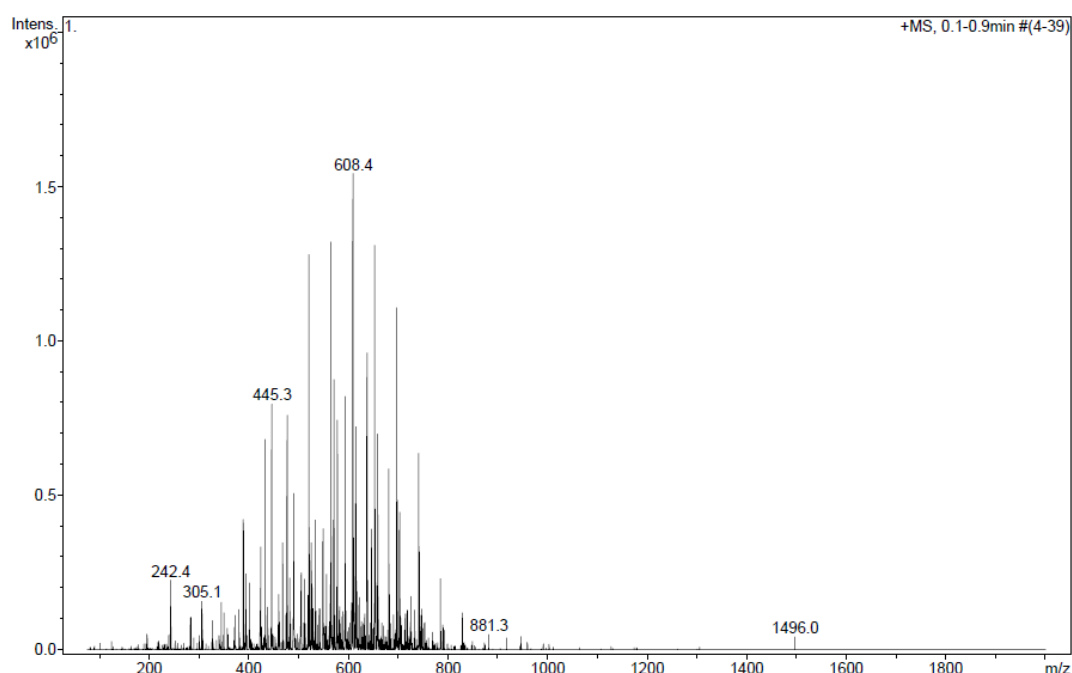


Figura II.5 - Espectro de massa para o Vertimec Gold obtido por HPLC/MS sem a utilização de coluna cromatográfica

O Alkamuls B é um óleo de rícino etoxilado (figura I.7) e é utilizado como emulsionante não iônico. O Atlas G-1096 é um hexaoleato de sorbitol etoxilado (figura I.9) e pode ser utilizado como dispersante ou emulsionante. Ambos apresentam polímeros na sua constituição com “n” oxiranos ($m/z=44$) o que explica as diferenças de massa. Cada pico corresponde ao n+1 relativamente pico de massa anterior.

É importante referir que, apesar de terem sido identificados estes surfactantes em particular, existem diversas marcas com produtos contendo o mesmo composto ou mistura de compostos. O Alkamuls B é um emulsionante da marca Rhodia mas existem alternativas do mercado, de composição semelhante, por exemplo a gama Etocas™ da Croda. Através das análises realizadas não é possível identificar a marca mas apenas a composição.

Foi também injetado o Vertimec Gold sem preparação da amostra (solução utilizada para a obtenção dos cromatogramas nas figuras II.3 e II.4) no entanto, não houve nenhuma identificação positiva na biblioteca de surfactantes criada internamente. Uma justificação provável para esta situação é a existência de interferentes na matriz, como por exemplo a Abamectina, como é possível observar na figura II.4.

Após a identificação dos surfactantes, estes foram injetados no mesmo método onde o Vertimec Gold tinha sido previamente injetado, através HPLC/MS, com coluna cromatográfica, de modo a confirmar a presença de ambos (figura II.6 e II.7).

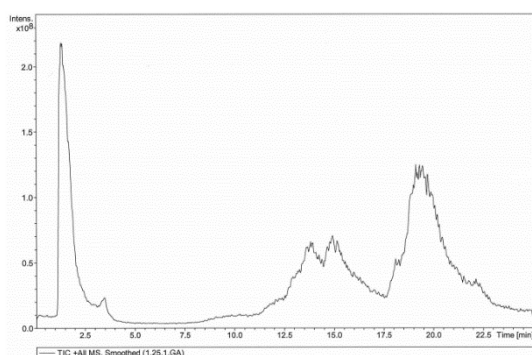


Figura II.6 - Cromatograma de HPLC/MS do Atlas G-1096

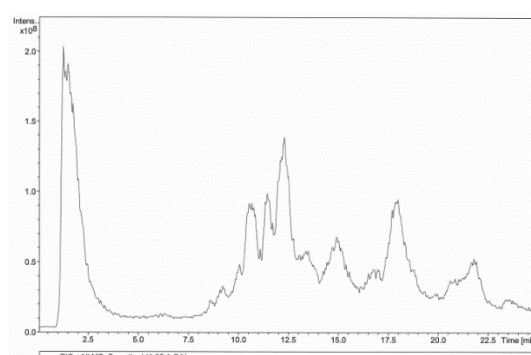


Figura II.7 - Cromatograma de HPLC/MS do Alkamuls B

Por comparação do cromatograma obtido para o Vertimec Gold (figura II.3) com os cromatogramas dos surfactantes identificados (figuras II.6 E II.7) e, tendo em conta que ambos foram preparados na mesma concentração (8mg/mL), é possível concluir que, apesar da identificação positiva obtida anteriormente para o Atlas G-1096, este não se encontra presente no Vertimec Gold ou, estando presente, a sua quantidade é vestigial e não foi possível a sua deteção.

Comparando os cromatogramas da figura II.3 e II.7, o Alkamuls B parece encontrar-se presente no entanto, através da comparação da massa para cada um dos picos do Vertimec Gold, com os picos a igual tempo de retenção do Alkamuls B, não se verificam semelhanças. A diferença entre os espectros de massa pode ocorrer devido a interferências dos componentes presentes no Vertimec Gold (solvente, co-solvente etc.). Por esse motivo, a estratégia adotada consiste na mimetização da formulação utilizando como surfactante o Alkamuls B. Após a formulação, será feita uma comparação dos cromatogramas (obtidos por

HPLC/MS) da formulação e do Vertimec Gold e respectivos espectros de massa, para confirmação da presença de Alkamuls B.

Ainda que o Alkamuls B se encontre presente, devido à baixa resolução entre picos, no cromatograma de HPLC/MS do Vertimec Gold (figura II.3), não é possível a sua quantificação. Ainda assim, admitindo que pelo menos a grande maioria dos constituintes do Vertimec Gold foram identificados, é possível calcular qual a percentagem deste surfactante que se encontra presente no Vertimec Gold, utilizando-o como componente de balanço. No futuro, a utilização de colunas específicas para a análise de surfactantes como por exemplo a gama Thermo Scientific Acclaim™ Surfactant Plus³⁴ pode permitir a quantificação destes compostos.

Apesar de não terem sido detetados surfactantes aniónicos, estes são muitas vezes utilizados com o objetivo de produzir um par equilibrado iónico-não iónico de emulsionantes, para garantir a estabilidade da emulsão. ³ Com o objetivo de reforçar os dados experimentais que mostram que estes não se encontram presentes, foi analisado, através de HPLC-DAD, um dos emulsionantes aniónicos mais utilizados, o dodecil benzeno sulfonato de cálcio. De modo a garantir que, caso este se encontre presente no Vertimec Gold, seja observado ou seja, que a preparação de amostra foi a correta, selecionou-se um surfactante da empresa Rhodia, que contém dodecil benzeno sulfonato de cálcio – o Rhodacal 70B. Utilizando uma coluna de fase reversa RP-18, um método de gradiente com acetonitrilo e uma solução aquosa contendo a TFA (ácido trifluoracético) 0.1% (50:50) e um detetor de DAD (detetor de arranjo de diodos), injetou-se o Rhodacal 70B. Inicialmente, solubilizou-se a amostra em acetonitrilo no entanto, a solução não se encontrava homogênea e por isso utilizou-se metanol. O cromatograma obtido para o λ (comprimento de onda) onde o Rhodacal 70B absorve mais intensamente encontra-se na figura II.8.

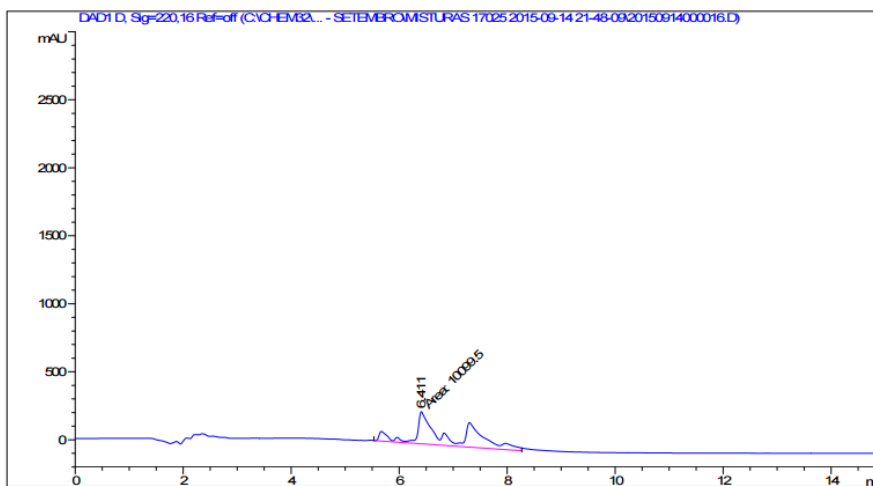


Figura II.8 - Cromatograma obtido por HPLC para o Rhodacal 70B a 0.04mg/mL

O padrão de Rhodacal 70B foi injetado a duas concentrações diferentes, a 0.5mg/mL (anexo B1) e a 0.04mg/mL (figura II.8). As áreas foram comparadas de modo a garantir que os picos observados correspondem ao composto.

O Vertimec Gold foi solubilizado em metanol, dando origem a uma mistura homogênea e foi injetado a uma concentração de 20mg/mL (anexo B2). A concentração foi escolhida de maneira a garantir que, caso

exista Rhodacal 70B no Vertimec Gold numa percentagem igual ou superior a 2%, este é observado com uma área igual ou superior à do cromatograma da figura II.8. O cromatograma do Vertimec Gold não apresenta picos e, por conseguinte, pode concluir-se que este emulsionante não se encontra presente numa concentração \geq a 2%.

Apesar do emulsionante aniónico testado ser dos mais utilizados, existem outros que podem também estar presentes no Vertimec Gold. Tendo em conta que é muito difícil testar toda a gama de emulsionantes aniónicos existentes no mercado, a estratégia adotada consiste na procura dos catiões, nomeadamente sódio e cálcio, pois estes são os catiões mais comuns em surfactantes.

A análise de cálcio foi realizada com recurso a AAS enquanto que a análise de sódio foi realizada através de cromatografia iónica.

Para a análise de cálcio através de AAS, utilizou-se um emulsionante aniónico da Rhodia, o Rhodacal 60/BE, pois este é um sal de cálcio. Através da sua análise, sendo possível a sua identificação por esta técnica, é provável que, existindo cálcio no Vertimec Gold, este seja observado, resultado este que mostra que a preparação de amostra é a adequada. De acordo com a FDS deste composto, este emulsionante encontra-se presente na solução numa percentagem de 60%, sendo que os restantes 40% correspondem a solvente. Como já foi referido, a técnica de AAS é bastante sensível conseguindo detetar concentrações em ppm, por esse motivo, foi realizada uma reta de calibração com padrão de cálcio a 0.5, 1 e 2ppm (L1, L2 e L3). A reta de calibração encontra-se no anexo C.

O Rhodacal 60/BE foi dissolvido numa solução 50:50 metanol:água pois, utilizando apenas água, este não é completamente solúvel e, não havendo homogeneização, não é possível garantir que os compostos de interesse não se encontram na parte insolúvel. Com o objetivo de garantir que os resultados obtidos são reprodutíveis, os padrões de cálcio foram preparados da mesma forma que as amostras – Rhodacal 60/BE e Vertimec Gold- de modo a que as matrizes sejam o mais idênticas possível. O Rhodacal 60/BE foi preparado numa concentração de 0.001mg/mL, que corresponde a 0.0006mg/mL de emulsionante (o restante, como já referido, corresponde ao solvente). O padrão foi analisado a esta concentração mas, como a concentração de cálcio se encontrava abaixo do limite de deteção, analisou-se uma solução mais concentrada de Rhodacal 60/BE, com 0.006 mg/mL de emulsionante. A esta concentração o cálcio no Rhodacal 60/BE apresenta valores de absorvância dentro da reta de calibração.

A solução de Vertimec Gold foi preparada com uma concentração de 1mg/mL. A absorvância de cálcio observada foi inferior à reta de calibração ou seja, inferior a 0.5ppm. Isto significa que, em 1000 ppm de Vertimec Gold, se encontram menos que 0.5ppm de cálcio ou seja, o teor de cálcio no Vertimec Gold é inferior a 0.05%.

Devido à inexistência em laboratório de uma lâmpada adequada para a quantificação de sódio por AAS, recorreu-se a um cromatógrafo iónico para a identificação de sódio. Foi utilizada uma coluna Thermoscientific Dionex Ionpac™ CS16 5*250mm, esta coluna é ideal para a quantificação de catiões com tempos de retenção próximos, tais como o sódio e a amónia, em diferentes matrizes.³⁵

Utilizou-se como padrão o surfactante de nome comercial Agnique® SLS 90 P, da marca BASF, composto por dodecil sulfato de sódio. Este surfactante foi preparado numa concentração de 0.1mg/mL, o que equivale a 0.008mg/mL^a de sódio. O cromatograma obtido encontra-se na figura II.9. As amostras foram preparadas em água visto que se verificou uma boa homogeneização das soluções.

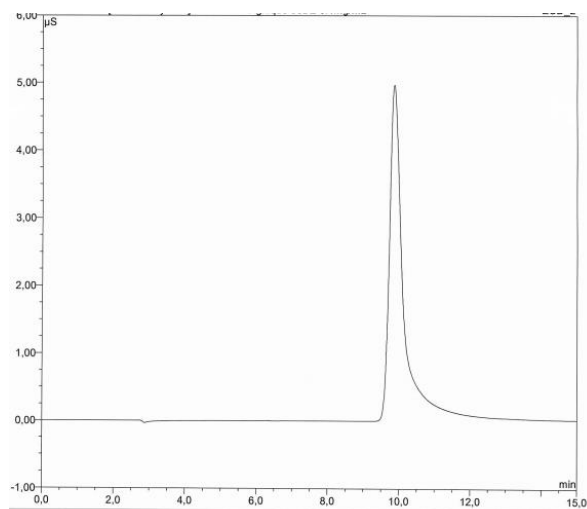


Figura II.9 - Cromatograma obtido para o Agnique® SLS 90 P através de cromatografia iónica

O Vertimec Gold foi preparado numa concentração de 10mg/mL. Tendo em consideração que não é observado nenhum pico (anexo D), podemos concluir que este não se encontra presente numa concentração $\geq 0.08\%$.

Os resultados obtidos na pesquisa de surfactantes aniónicos permite concluir com algum grau de segurança que estes não se encontram presentes no Vertimec Gold.

II.2. Identificação e quantificação de outros excipientes

A quantificação do BHT, 1,2-propanodiol e ciclo-hexanol foi realizada através de GC-FID (cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama) e a identificação foi confirmada por GC/MS (cromatografia gasosa com detetor de espectroscopia de massa).

Visto que inicialmente não eram conhecidas as temperaturas a que os compostos eluiriam, foi testado um método que percorre uma vasta gama de temperaturas e cuja temperatura aumenta lentamente, para evitar a co-eluição dos componentes a analisar. Este método tem uma temperatura inicial do forno de 50°C que se mantém constante durante 5 minutos. Após este tempo existe um aumento de temperatura de 8°C por

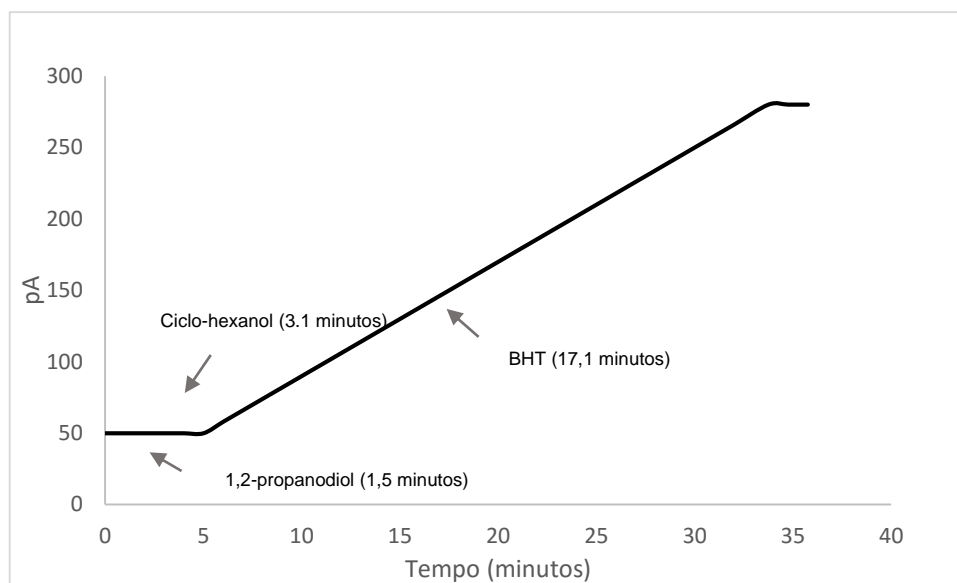
^a Para o cálculo deste valor, dividiu-se a massa molecular do sódio (22.9898g/mol) pela massa molecular do Agnique® SLS 90 P (288.38g/mol). Este cálculo permitiu determinar que a % de sódio presente no padrão é de 7.97%. Tendo em conta que este composto foi preparado a 0.1mg/mL, isso equivale a 0.008mg/mL de sódio

minuto até que a temperatura atinja os 280°C, temperatura à qual o forno se mantém durante 2 minutos – método 1.

Utilizando as temperaturas no forno descritas anteriormente, injetaram-se os padrões para cada um dos compostos a quantificar e o Vertimec Gold (anexo E). É possível observar a 1.537 min o 1,2-propanodiol, a 3.138 min o ciclo-hexanol e a 17.133 min o BHT. A ordem de eluição corresponde ao esperado tendo em consideração que a separação de componentes por cromatografia gasosa depende dos pontos de ebulição: quanto menor o ponto de ebulição, menor o tempo de retenção. Ainda assim, a interação entre os componentes a separar e a fase estacionária da coluna utilizada também tem um papel importante: se dois componentes têm pontos de ebulição semelhantes a separação por GC pode ser apenas possível se a fase estacionária interagir seletivamente com um dos componentes da mistura. Por esse motivo, é possível que compostos com pontos de ebulição semelhantes tenham ordens de eluição contrárias, dependendo da fase estacionária escolhida.

Apesar de todos os componentes se encontrarem devidamente separados, é possível otimizar o método através da alteração das temperaturas do forno, o que pode resultar em tempos de corrida mais curtos. No gráfico 1 encontra-se representada a evolução da temperatura do forno ao longo do tempo e o tempo de eluição dos componentes de interesse para o método 1.

Gráfico 1: Temperatura do forno para o método no GC-FID



É possível constatar que entre o 2º e 3º composto a eluir existe um tempo de “espera” de 14 minutos. Por esse motivo, é possível aumentar a escala em que a temperatura aumenta para 20°C/min e desta forma, o BHT elui por volta dos 11 minutos em vez dos 17,1 minutos. Apesar do último componente a eluir, o BHT, eluir por volta dos 170°C e, ser possível parar a evolução da temperatura do forno aos 200°C, diminuindo ainda mais o tempo de corrida, tal não é aconselhável, visto que a 200°C, os compostos presentes na matriz analisada podem não estar volatilizados e ficar retidos na coluna. Por esse motivo, o novo método

desenvolvido (método 2) apresenta um aumento na temperatura do forno de 20°C/min até aos 240°C. As alterações sugeridas alteraram o tempo de corrida dos 35.75 min. para os 14.5 minutos.

Utilizando o método com menor tempo de corrida (método 2), analisaram-se novamente os padrões e o Vertimec Gold. As concentrações obtidas para cada analito através da utilização das equações 1 e 2 encontram-se na tabela II.2.

Tabela II.2- Quantificação dos constituintes do Vertimec Gold identificados por GC

Designação	Concentração (%m/m)
Ciclo-hexanol	67,4
1,2-propanodiol	14,2
2,6-di-<i>tert</i>-butil-<i>p</i>-cresol (BHT)	1,9

O valor apresentado na tabela II.2 foi obtido através da média das concentrações obtidas (%m/m) para três pesagens independentes de Vertimec Gold e, cada um dos padrões utilizado foi pesado em três diferentes concentrações de modo a construir uma reta de calibração (L1, L2 e L3). Devido à discrepância entre as concentrações dos componentes a quantificar na amostra (o componente mais concentrado presente no Vertimec Gold apresenta uma concentração >60% e o menos concentrado <2%), não é possível quantificar os 3 componentes do Vertimec Gold com apenas uma concentração deste produto pois, ou a reta de calibração do BHT é realizada a uma concentração muito baixa, de modo a que a reta do ciclo-hexanol apresente uma boa linearidade ou o oposto. Para contornar este problema, o ciclo-hexanol foi quantificado utilizando uma amostra de Vertimec Gold a cerca de 0.5mg/mL, enquanto que o BHT e o 1,2-propanodiol foram quantificados utilizando uma amostra a cerca 2.5mg/mL. Os cromatogramas significativos de padrões e amostras utilizados para a quantificação encontram-se no anexo F.

O método utilizado na quantificação por GC-FID não se encontra validado. O objetivo principal da validação de um método analítico é garantir que todos os resultados futuros em análises rotineiras, encontrar-se-ão próximos do valor real desconhecido de concentração de analito numa determinada amostra. Como o objetivo deste estudo é quantificar os componentes de um único produto, este não será um trabalho de rotina e por isso não é necessária a validação do método. Ainda assim, os resultados da validação de um método são utilizados para avaliar a qualidade e consistência dos resultados analíticos o que justifica a necessidade de avaliar a linearidade e a precisão do método utilizado. A precisão do método foi calculada através do valor de %RSD (desvio padrão relativo) e a linearidade foi avaliada através do valor do coeficiente de determinação obtido (R^2).³⁶ As retas de calibração obtidas para os 3 componentes analisados encontram-se no anexo G.

Precisão

A precisão de um método analítico encontra-se interligada à concentração do analito. A relação entre a concentração do analito e o RSD mais conhecida é designada por equação de Horwitz (equação II.1) ³⁷:

$$\%RSD \leq 2^{(1-0.5\log C)} \quad (\text{II.1})$$

Sendo:

C = Concentração do analito em mg/g

Para testar a precisão do método, o valor do %RSD obtido para três pesagens independentes do mesmo analito deve ser inferior ao resultado da equação 3. A fórmula utilizada para o cálculo do RSD encontra-se expressa na equação II.2:

$$\%RSD = \frac{\sigma}{\mu} * 100 \quad (\text{II.2})$$

Sendo:

σ = desvio padrão

μ = média

Por sua vez, o desvio padrão é dado pela equação II.3.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(\alpha - \bar{\alpha})^2}{N}} \quad (\text{II.3})$$

Sendo:

α = cada valor da população

$\bar{\alpha}$ = média de todos os valores

N = nº de valores da população

Linearidade

A linearidade é definida como a capacidade do método gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados na faixa analítica especificada. ³⁸

Matematicamente, a estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método matemático denominado regressão linear. É possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de determinação, R^2 . Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de determinação estimados. ³⁹

O R^2 das retas de calibração construídas foi então avaliado, sendo que apenas valores superiores a 0.98 foram considerados satisfatórios⁴⁰. As soluções foram preparadas de modo a que a concentração relativa de cada um dos componentes na formulação se encontre na gama de concentração da reta.

Na tabela II.3 encontram-se os valores de %RSD (calculado a partir da equação II.2) e de R^2 obtidos para as concentrações calculadas a partir da equação I.1, para cada um dos componentes a quantificar.

Tabela II.3 - %RSD e concentrações (%m/m) obtidas para os compostos a quantificar

Ciclo-hexanol			1,2-Propanodiol			BHT		
Concentrações obtidas (%m/m)	%RSD	R^2	Concentrações obtidas (%m/m)	%RSD	R^2	Concentrações obtidas (%m/m)	%RSD	R^2
67.82%	0.60 (0.75*)	0.9980	14,11%	0.76 (0.94*)	0.9996	1,92%	0.004 (1.28*)	0.9999
66.86%			14,37%			1,91%		
67,56%			14,25%			1,90%		

*Valor calculado através da equação II.1 ou seja, valor máximo de %RSD que pode ser obtido para que o método seja considerado preciso

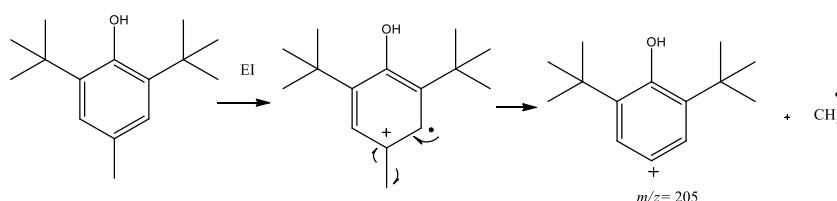
A análise da tabela II.3, permite concluir que o %RSD calculado para cada componente se encontra abaixo do valor máximo calculado através da equação II.1 e, ainda, que os valores de coeficiente de determinação obtidos são > 0.98 ou seja, pode concluir-se que as retas apresentam uma boa aproximação.

Por comparação, através de GC-FID, do tempo de retenção dos padrões com os tempos de retenção dos compostos presentes no Vertimec Gold, é possível que estes correspondam aos mesmo compostos no entanto, de modo a confirmar a identificação, recorreu-se a GC/MS.

A técnica de ionização utilizado na análise de GC/MS foi de impacto eletrónico (EI), com ionização positiva. Nesta técnica de ionização, a amostra em estado de vapor é bombardeada com eletrões de alta energia (70eV), o que provoca a ejeção um eletrão da molécula da amostra, de modo a produzir um radical catião. Ao contrário da técnica de ESI, em EI não são produzidos iões carregados positiva ou negativamente. Por esse motivo, a massa corresponde à massa molecular do composto $[M^+]$ em vez de $[M+1]^+$ ou $[M+23]^+$, como acontece frequentemente em ESI no caso do catião ser hidrogénio ou sódio, respetivamente. ³³

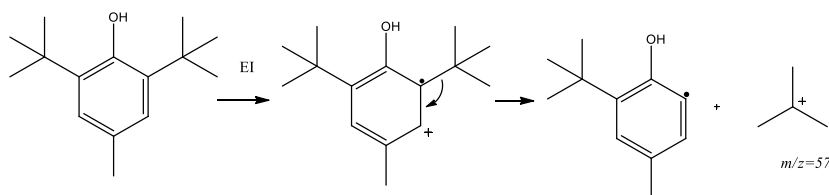
No anexo H encontram-se os espectros de massa do BHT, do ciclo-hexanol e do 1,2-propanodiol no padrão e no Vertimec Gold, respetivamente. Através da comparação dos espectros é possível confirmar que o Vertimec Gold apresenta BHT, ciclo-hexanol e 1,2-propanodiol na sua formulação.

Relativamente ao BHT, a fragmentação que dá origem ao pico base a $m/z=205$, presente nos espectros de massa do padrão e da formulação encontra-se no esquema II.1.



Esquema II.1- Fragmentação do BHT (pico base)

A massa correspondente a $m/z=57$ corresponde à fragmentação que dá origem ao grupo *tert*-butilo, representada no esquema II.2.



Esquema II.2- Fragmentação correspondente ao fragmento de $m/z=57$ no espectro de massa no BHT

O espectro de massa do BHT no Vertimec Gold (figura II.10) apresenta uma linha de base com um maior número de fragmentos de massa que o espectro de massa do mesmo composto, no padrão. Este facto pode ser explicado pela baixa concentração de BHT na amostra (1.9%), o que significa que, tendo esta sido preparada numa concentração de cerca de 3mg/mL, a concentração real de BHT presente em solução é de apenas 0.06mg/mL, enquanto que o padrão apresenta uma concentração de 1mg/mL ou seja, está sujeito a um menor número de interferências da linha de base.

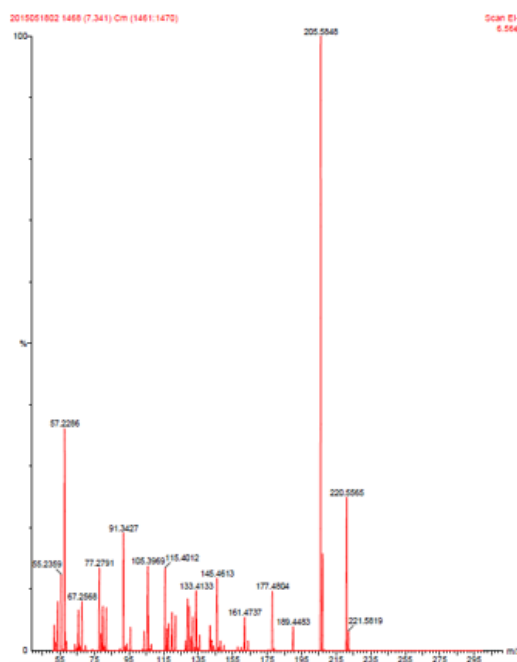
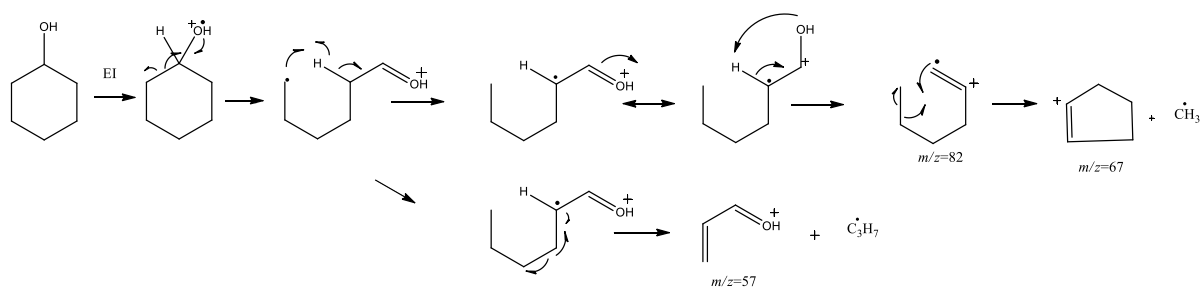


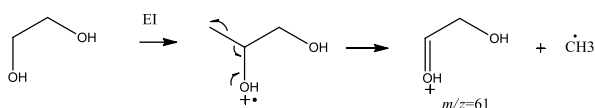
Figura II.10 - Espectro de massa do padrão de Vertimec Gold

Relativamente à fragmentação do ciclo-hexanol (esquema II.3), esta é iniciada através da clivagem α , mas ao contrário do que acontece em cadeias lineares, a clivagem α ao ião molecular sofre rearranjos através de um ião estabilizado por ressonância via anel de 6 membros. Após a clivagem do anel e subseqüentes reações de rearranjo são formados os iões estruturalmente importantes a $m/z=57$ (pico base), 67 e 82.⁴¹



Esquema II.3- Fragmentações do ciclo-hexanol

No esquema II.4 encontra-se a fragmentação que explica o pico base presente no espectro de massa observado para o 1,2-propanodiol.



Esquema II.4 – Fragmentações do 1,2-propanodiol

II.3. Formulação

De acordo com os componentes identificados no Vertimec Gold foi elaborada a tabela II.4.

Tabela II.4-Fórmula final para o Vertimec Gold

Designação	Nome químico	Conteúdo g/L	Conteúdo, g/Kg	Objetivo do formulante	Número CAS
Abamectina Técnica	Abamectina – pureza 96% (m/m)	18,8	19,2	Ingrediente Ativo	71751-41-2
Alkamuls B	Óleo de rícino etoxilado	142,0	144,8 ^b	Emulsionante	61791-12-6
BHT	2,6-di- <i>tert</i> -butil- <i>p</i> -cresol	20,0	20,4	Agente Estabilizador	128-37-0
Propilenoglicol	1,2-propanodiol	140,0	142,9	Solvente	57-55-6
Ciclo-hexanol	Ciclo-hexanol	659,2	672,7	Co-solvente	108-93-0
TOTA		980,0	1000,0		

^b Devido à impossibilidade de quantificar este surfactante, a sua percentagem foi calculada retirando às 1000g/Kg, a soma de todos os outros componentes quantificados

De modo a investigar até que ponto os componentes e percentagens sugeridas correspondem à fórmula do Vertimec Gold, foi mimetizada a formulação em laboratório.

Os componentes foram adicionados seguindo as quantidades descritas na tabela II.4. Primeiramente adicionaram-se os solventes (ciclo-hexanol e 1,2-propanodiol) seguidos do surfactante, que se encontra no estado líquido. Estes compostos não foram adicionados por agitação pois, de maneira a inserir as quantidades exatas, a adição foi feita diretamente à reação recorrendo a uma balança digital que não possui agitação. Por fim, foram adicionados os sólidos (Abamectina e BHT) em agitação, neste caso o controlo através de uma balança não era fundamental pois pesando em recipientes à parte, a dificuldade em transferir todo o conteúdo pesado para a formulação é diminuta. A adição dos sólidos foi feita lentamente sendo que o BHT demorou algum tempo até dissolução completa no entanto, após 1h já não eram visíveis sólidos em suspensão. Em termos de aparência, o Vertimec Gold e a formulação realizada apresentam ambas um tom amarelo. Apesar do tom de amarelo não ser o mesmo, isto pode dar-se à utilização de diferentes fornecedores para o solvente, que é o componente adicionado em maior quantidade.

O Vertimec Gold e a formulação desenvolvida foram analisadas por HPLC/MS, com o objetivo de comparar as duas composições. Foi ainda realizado o espectro de IV de ambas as formulações, como ferramenta de comparação.

Através do comportamento do Vertimec Gold e da formulação desenvolvida a diversos testes, foi possível investigar com maior rigor se as conclusões retiradas foram as corretas.

Os testes realizados foram feitos de acordo com o descrito no CIPAC – Conselho analítico colaborativo internacional de pesticidas. O CIPAC dedica-se à promoção do acordo internacional de métodos de análise de agroquímicos, testes de ensaio para formulações físico-químicas e ainda na promoção de programas inter-laboratoriais para a avaliação de métodos de ensaio. Os métodos descritos no CIPAC são propostos por empresas e testados por laboratórios por todo o mundo.⁴²

Foi determinada a estabilidade da formulação e do Vertimec Gold a 0°C durante 7 dias e a 54°C durante 14 dias, com o objetivo de dar uma indicação da sua eficiência durante 2 anos após a data de fabrico⁴³ e ainda de comparar, através de testes físico-químicos, ambas as formulações.

No desenvolvimento de um EC, um dos primeiros requisitos é determinar qual o solvente mais adequado para o ingrediente ativo utilizada visto que muitos agroquímicos têm tendência a cristalizar.⁴⁴ Por esse motivo, o produto de ensaio foi submetido a testes de armazenamento a 0°C durante 7 dias de acordo com o método CIPAC MT 39.3⁴⁵. Findo esse tempo, foi anotada a aparência para determinar se ocorre cristalização, que é uma característica indesejada.⁴⁵

Este teste é realizado utilizando uma proveta de fundo cónico, o que possibilita ver com maior detalhe uma possível separação de fases que possa ocorrer em pequena escala ou cristalização no fundo da proveta. Após 7 dias a 0°C, as amostras foram retiradas da estufa, sendo que não foi observada cristalização ou separação de fases para nenhuma destas.

O método da estabilidade a 0°C/7 dias utilizado apresenta uma fraqueza fundamental, pois apenas avalia a capacidade de cristalização para uma temperatura no entanto, em condições reais, as amostras estão sujeitas a uma gama de temperaturas sendo que, para esta situação a cristalização não é avaliada.

Determinou-se a estabilidade a 54°C durante 14 dias (CIPAC MT 46.3⁴⁶). No fim do estudo, foi determinada o teor em ingrediente ativo, a densidade (ASTM D 4052-96)⁴⁷, a estabilidade de emulsão (CIPAC MT 36.1)⁴⁸, a persistência de espumas (CIPAC MT 47.1)⁴⁹ e o pH a 1% v/v (CIPAC MT 75.3)⁵⁰, determinando em simultâneo estes parâmetros na amostra à temperatura ambiente.

O teste de estabilidade a 54°C durante 14 dias pode ser considerado um guia útil na performance após armazenamento em climas temperados ou quentes mas, ainda assim, é importante referir que um formulado pode passar no teste e não ter um comportamento satisfatório em campo. Isto pode acontecer por exemplo devido a uma contaminação de crescimento fúngico ou bacteriano.⁵¹

II.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Com o objetivo de comparar ambas as formulações, foram realizados os respectivos espectros de IV (Infravermelho) para o Vertimec Gold e para a formulação, estes encontram-se nas figuras II.11 e II.12, respetivamente.

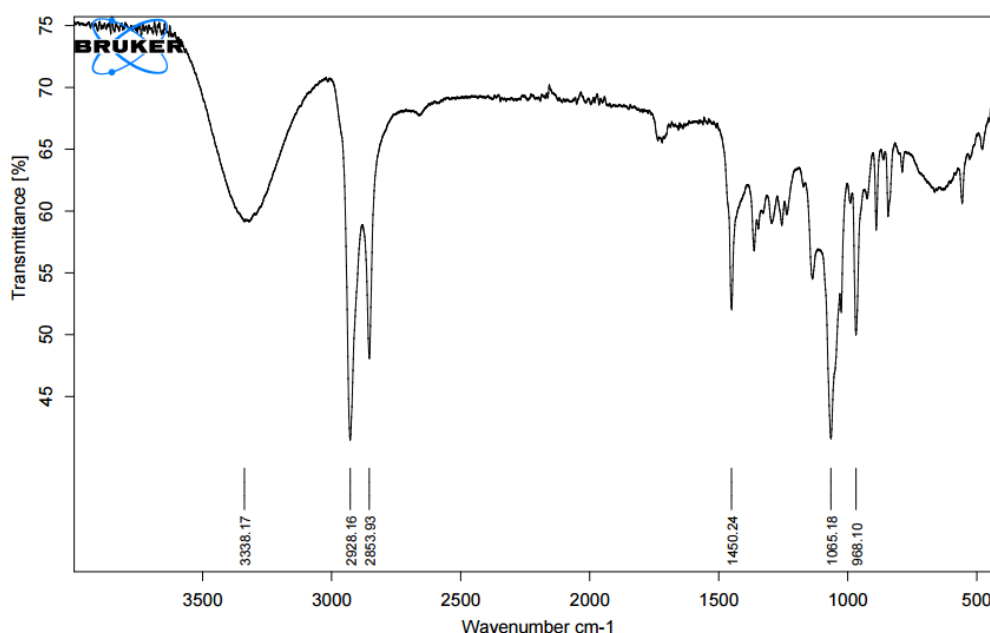


Figura II.11 – Espectro de IV obtido para o Vertimec Gold

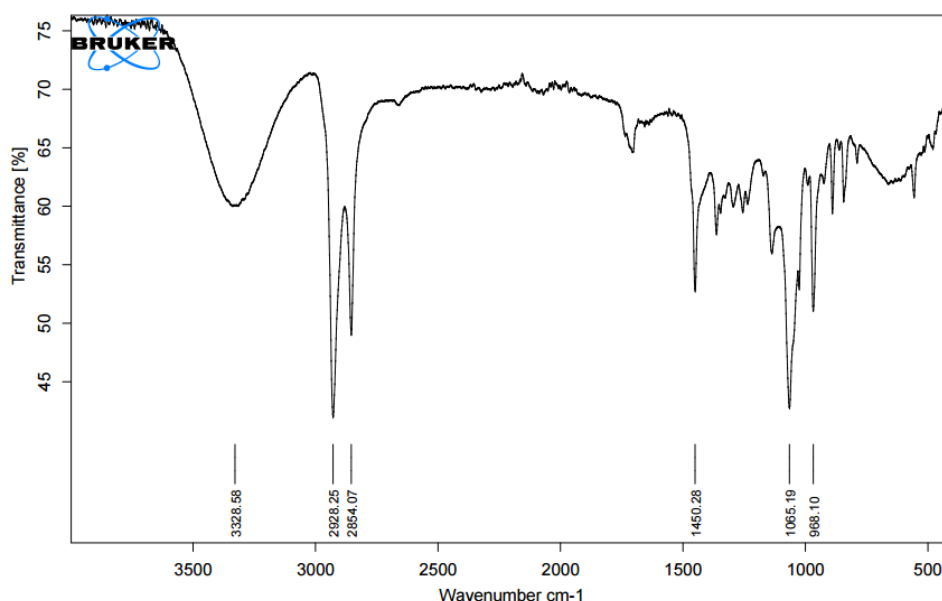


Figura II.12 – Espectro de IV obtido para a formulação

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizada num modo de refletância total atenuada (ATR). O ATR apresenta a vantagem de análise de uma variedade de amostras líquidas e sólidas sem uma preparação complexa. Todos os tipos de amostra são colocados sem diluição ou preparação de pastilhas de KBr, num cristal de ATR.⁵²

A partir da análise dos IVs representados nas figuras II.11 e II.12, é possível verificar que não existem diferenças nas bandas observadas. Observa-se em ambos os espectros de IV, a 3329 cm^{-1} uma banda que pode corresponder à vibração de deformação axial do grupo O-H e a 2928 e 2854 cm^{-1} o mesmo tipo de vibração mas respeitante a grupos C-H. A banda forte presente a 1065 cm^{-1} pode corresponder à vibração de deformação axial do grupo C-O³³. Por comparação com a literatura, é possível concluir que a grande maioria das bandas presentes nos espectros de IV realizados, correspondem ao espectro de IV do ciclo-hexanol⁵³. Este facto pode ser explicado pela elevada percentagem de ciclo-hexanol nas formulações (>60%) o que torna difícil visualizar os restantes componentes, especialmente o surfactante, visto que se encontra numa percentagem < a 15%. Para ultrapassar esta dificuldade, uma opção seria a evaporação com recurso a um evaporador rotativo e a realização de outro espectro de IV, pois o surfactante encontrar-se-ia numa concentração muito superior.

II.3.2. Análise das formulações com recurso a HPLC/MS

O Vertimec Gold e a formulação realizada foram analisadas por HPLC/MS. Como as matrizes são idênticas, é de esperar que os espectros de massa apresentem o mesmo grau de interferências e consequentemente, sejam idênticos. Não foi realizada preparação de amostra de modo a garantir que a matriz não se altera devido por exemplo, a um maior rendimento de extração numa amostra relativamente à outra.

Nas figuras II.13 e II.14 encontram-se os cromatogramas obtidos para a formulação e para o Vertimec Gold, respectivamente, obtidos por HPLC/MS, onde foram integradas dois conjuntos de picos diferentes (identificadas com o número 1 e 2), e os espectros de massa correspondentes cada um desses conjunto de picos.

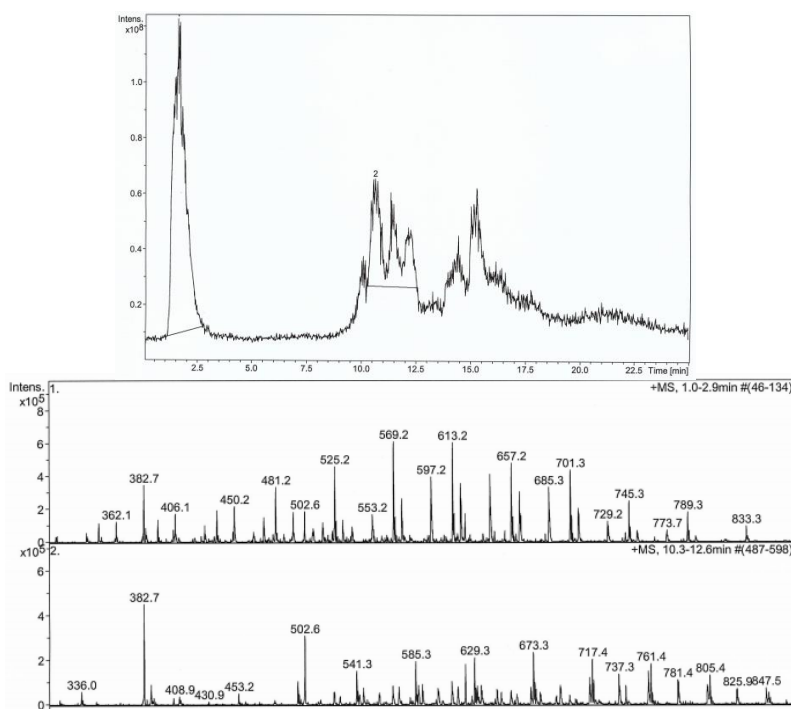


Figura II.13 - Cromatograma obtido por HPLC/MS e espectro de massa para os 2 picos assinalados (formulação)

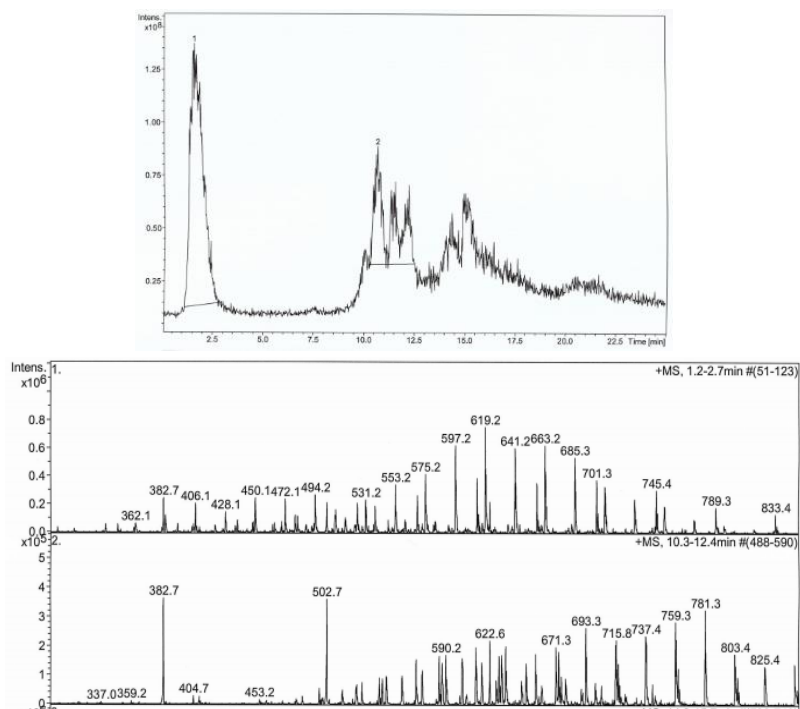


Figura II.14 - Cromatograma obtido por HPLC/MS e espectro de massa para os 2 picos assinalados (Vertimec Gold)

Os espectros de massa representados nas figuras II.13 e II.14 são semelhantes, o que permite concluir que se tratam do mesmo composto no entanto, para o espectro de massa correspondente ao 2º pico no cromatograma do Vertimec Gold e, comparando com o espectro de massa do pico correspondente na formulação, parece existir uma contaminação com outro composto. Tendo em conta que não é possível investigar a proveniência do emulsionante utilizado, esta contaminação pode estar relacionada com o solvente em que este se encontra preparado.

O número de diferentes picos observados nos cromatogramas de HPLC/MS (figura II.13 e II.14), são explicados pela constituição do Alkamuls B, previamente identificado no Vertimec Gold e utilizado na formulação, que apresenta vários polímeros cuja principal diferença entre si pode ser o comprimento da cadeia étoxí ou os grupos terminais que podem corresponder a ácidos carboxílicos de diferentes proveniências, sendo que a FDS do Alkamuls B não especifica a constituição dos óleos rícino etoxilados que constituem este emulsionante.

II.3.3. Teor em substância ativa

A quantificação de Abamectina foi realizado de acordo com um método validado internamente. Para a escolha do comprimento de onda indicado para a análise deste composto, foi traçado o seu espectro de UV (Ultravioleta) com recurso a um DAD (Detetor de arranjo de diodos) foi escolhido o comprimento de onda onde o composto absorve mais intensamente. Na figura II.15 encontra-se o espectro de UV obtido para a Abamectina onde é possível verificar que o máximo de absorção deste composto é a 245 nm.

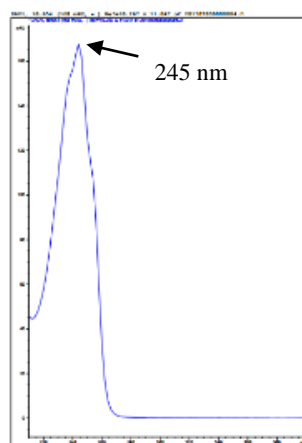


Figura II.15 - Espectro de UV da Abamectina

De acordo com o método utilizado, o padrão é preparado numa concentração de 0.02 mg/ mL de modo a corresponder ao L3 reta de calibração (reta preparada entre 0.014 e 0.032 mg/mL o que corresponde ao L1 e ao L7, respetivamente). Esta reta de calibração é preparada de 6 em 6 meses, de forma a garantir que existe linearidade sendo que, nas restantes análises durante este tempo, apenas é necessário preparar o ponto L3. A massa de amostra a pesar é calculada de maneira a que a área obtida se encontre dentro da reta pois, dentro desta gama de valores de concentração existe linearidade. Neste caso, é esperado que o teor

em ingrediente ativo se encontre por volta dos 1.8% por isso, a amostra deve ser preparada numa concentração de cerca de 1.10 mg/mL de modo a que a concentração do ingrediente ativo nesta seja de 0.02mg/mL.

Na tabela II.5 encontram-se as áreas obtidas para padrões e amostras, os cromatogramas representativos encontram-se no anexo I. Para cada uma das amostras a analisar foram realizadas duas pesagens independentes. Para o padrão, foi realizada uma solução de calibração e uma de controlo, sendo que a solução de calibração foi injetada duas vezes.

Tabela II.5-Áreas obtidas por HPLC-DAD para avaliação do teor no tempo T0 (amostra à temperatura ambiente após 14 dias) e T14 (amostra a 54°C durante 14 dias).

	Padrão	Formulação (T0)	Formulação (T14)	Vertimec Gold (T0)	Vertimec Gold (T14)
Área (A)	1696,44678 1688.46509	1652.25611	1597.52145	1756.86658	1757.00854
Área (B)	1696.25145	1714.80231	1621.25658	1658.52565	1675.50244

Tendo em conta que a área obtida para o padrão – cerca de 1700 (tabela II.5) - corresponde ao ponto L3 da reta de calibração (0.02 mg/mL), a área das amostras tem que se encontrar entre 1190 (L1- 0.014mg/mL) e 2720 (L7 – 0.032mg/mL) para garantir que a concentração destas se encontra dentro da reta de calibração.

O cálculo do teor é feito através das equações I.2 e I.3 e os valores obtidos encontram-se na tabela II.6.

Tabela II.6- Teores obtidos em % m/m nos testes de estabilidade (T0 e T14)

	T0	T14
Vertimec Gold	1,78	1,74
Formulação	1,67	1,66

Os valores obtidos encontram-se de acordo com o esperado (1.8% (m/m)). Apesar do teor do ingrediente ativo se encontrar ligeiramente abaixo do esperado, o desvio não é significativo e pode dever-se a erros na pesagem. A degradação de ingrediente ativo é de 2.3% para o Vertimec Gold e de 0.6% para a formulação. Para um teor de ingrediente ativo de 1.8% a FAO (Food and Agriculture Organization) aceita valores de degradação de $\pm 15\%$ por isso, pode concluir-se que o valor obtido é satisfatório.

II.3.4. Estabilidade de emulsão

Um dos requisitos mais importantes numa emulsão concentrada é a dispersão, é importante verificar se a formulação dispersa facilmente no meio onde será pulverizado, normalmente água. Sem esta característica, torna-se improvável que o ingrediente ativo seja distribuído uniformemente no “alvo”. Tendo em conta que uma emulsão concentrada é constituído maioritariamente por componentes insolúveis em água, uma boa dispersão e estabilidade da emulsão resultante é um fator crítico.

O conceito básico deste método é a adição da formulação a água de dureza conhecida e a uma temperatura específica, utilizando uma proveta cilíndrica e observar a espontaneidade de formação da emulsão. A emulsão é então agitada e a determinação da quantidade de formulação que se separa com o tempo e a facilidade de re-dispersão é avaliada.⁴⁴

A estabilidade de emulsão foi testada tendo em conta o método descrito em CIPAC MT 36.1⁴⁸ em que são utilizadas duas águas com diferentes graus de dureza: 20 e 342ppm (água dura A e D, respetivamente). A estabilidade de emulsão foi avaliada em dois momentos distintos para o Vertimec Gold e para a formulação (nos tempos T0 e T14): 24s, 30 minutos e 2 horas, sendo que para todas as situações a emulsão foi completa, não existindo óleo e/ou creme.

Estes resultados revelam que, apesar de ter sido utilizado apenas um surfactante, as suas características resultaram numa boa estabilidade de emulsão e de dispersão. Esta é a vantagem de utilizar surfactantes não-iónicos pois, enquanto que os surfactantes aniónicos são sensíveis às alterações na dureza da água (quanto maior a dureza da água, traduzida num maior número de iões em solução, menor a sua eficácia), esta causa um impacto menor na eficácia de um surfactante não-iónico. Os surfactantes não-iónicos podem ainda melhorar o Bloom.²⁸

Para além do método utilizado, descrito no CIPAC para este teste (CIPAC MT 36.1⁴⁸), existem outros organismos com métodos diferentes para a avaliação da mesma característica, como por exemplo a ASTM (Sociedade Americana para Testes e Materiais). O conceito base de ambos os métodos é o mesmo no entanto, detalhadamente existem diferenças significativas.

Os resultados destes testes são dependentes de um número de parâmetros, particularmente a temperatura de teste, a dureza da água utilizada e os tempos de medição. Os dois métodos (descritos no CIPAC e na ASTM) diferem consideravelmente nestes parâmetros. Consequentemente, os dois métodos podem originar resultados diferentes para a mesma formulação. A diferença mais significativa encontra-se na dureza da água: o método ASTM utiliza águas mais duras (35, 342 e 1000 ppm de CaCO_3) que o método CIPAC (20 e 342 ppm de CaCO_3). Esta diferença reflete essencialmente a tendência para a utilização de águas mais duras na América do Norte comparativamente à Europa.⁴⁴

II.3.5. Persistência de espumas

A persistência de espumas é a medida da quantidade de espuma que é provável que se encontre presente no tanque de pulverização ou noutro equipamento com a mesma aplicação, após a diluição do produto em água, de acordo com as instruções de utilização.

Esta técnica foi realizada de acordo com o CIPAC MT 47.1.⁴⁹ Na tabela II.7, encontra-se o volume de espuma obtido após inversão de uma proveta, contendo cerca de 1g de Abamectina e 95g de água dura D, 30 vezes ao longo de um minuto.

Tabela II.7 – Volume de espuma obtido no teste de persistência de espumas para as formulações (T0 e T14)

	Vertimec Gold	Formulação
T0	3 mL	1mL
T14	3 mL	1 mL

Para determinadas matérias ativas, existe uma especificação para o volume máximo de espuma formado por este processo. Nos casos, em que não existe essa especificação, como por exemplo para a Abamectina, o valor máximo é considerado 60mL.⁴⁹

Ambas as formulações apresentam uma persistência de espumas dentro dos limites aceitáveis e não existe alteração do volume de espuma sob diferentes condições climáticas. As diferenças entre o volume de espuma formado para o Vertimec Gold e para a formulação podem ser justificadas pela presença de impurezas, que podem ter a capacidade de funcionar como anti-espuma ou formadores de espuma.

II.3.6. Determinação da densidade

Existem diversos métodos para o cálculo da densidade no laboratório de Controlo de Qualidade da Sapeac AGRO:

- Densidade utilizando picnómetros
- Densidade aparente
- Densidade através de um densímetro automático

A densidade de líquidos é determinada através de um densímetro automático e este é o método mais adequado para a determinação da densidade de ECs, visto que os outros métodos descritos são mais específicos para sólidos.

A determinação da densidade foi realizada com recurso a um densímetro automático Mettler-Toledo 300M. Foi utilizado o método ASTM D 4052-96.⁴⁷

Este método de determinação da densidade de um líquido baseia-se na utilização de um densímetro oscilante. Utiliza-se um oscilador mecânico com a forma de um tubo em U, o qual se faz vibrar à frequência

de ressonância do oscilador que por sua vez, depende da massa. A introdução da amostra altera a frequência de ressonância do oscilador, sendo esta variação usada para determinar a densidade.⁵⁴ O cálculo da densidade é realizado através da equação II.4.⁵⁵

$$\rho_s = \rho_a - f(T_a^2 - T_s^2) \quad (\text{II.4})$$

Sendo:

$$p_s = \text{Densidade do produto} \left(\frac{g}{cm^3} \right)$$

$$p_a = \text{Densidade do ar} \left(\frac{g}{cm^3} \right)$$

$$T_a = \text{Período de oscilação da medição do ar (s)}$$

$$T_s = \text{Período de oscilação da medição do produto (s)}$$

$$f = \text{fator de cálculo}$$

O fator de cálculo é calculado na calibração, onde é obtida a densidade ar/água e o período de oscilação da medição do ar/água – equação II.5⁵⁵.

$$f = \frac{\rho_a - \rho_w}{T_a^2 - T_w^2} \quad (\text{II.5})$$

Sendo:

$$p_a = \text{Densidade do ar} \left(\frac{g}{cm^3} \right)$$

$$p_w = \text{Densidade da água} \left(\frac{g}{cm^3} \right)$$

$$T_a = \text{Período de oscilação da medição do ar (s)}$$

$$T_w = \text{Período de oscilação da medição do produto (s)}$$

Os resultados obtidos através deste método encontram-se na tabela II.8.

Tabela II.8 - Densidades determinadas para as formulações (T0 e T14)

	Vertimec Gold	Formulação
T0	0.975 g/cm ³	0.974 g/cm ³
T14	0.976 g/cm ³	0.975 g/cm ³

As densidades obtidas são bastante semelhantes para ambas as formulações. A pequena diferença de valores pode dever-se por exemplo às purezas aos reagentes utilizados que podem ter densidades ligeiramente diferentes ainda que sejam o mesmo composto químico ou ao erro do equipamento.

II.3.7. Determinação do pH 1% (v/v)

O pH é a medida da concentração de hidrogénio $[H^+]$. Todas as soluções aquosas podem ser medidas para determinar o seu valor de pH. O pH é definido como o algoritmo negativo da concentração do ião hidrogénio, expresso matematicamente pela equação II.6.

$$pH = -\log[H^+] \quad (II.6)$$

Sendo:

$[H^+]$ é a concentração do ião hidrogénio em mol/L

Para a existência de ião hidrogénio é necessário existir um meio aquoso caso contrário, não existe dissociação dos iões; por esse motivo, o pH das soluções em estudo não pode ser medido diretamente, é necessário a diluição em água. Neste caso, foi feita uma diluição de 100g de água para 1g de produto.

O método utilizado na determinação do pH foi desenvolvido internamente e tem como referência o método CIPAC MT 75.3⁵⁰. Os valores obtidos na determinação do pH no tempo T0 e T14 para o Vertimec Gold e para a formulação realizada encontram-se na tabela II.9.

Tabela II.9 - Valores de pH a 1% obtidos (T0 e T14)

	Vertimec Gold	Formulação
T0	3.8	4.1
T14	3.9	4.2

É possível verificar, por observação da tabela II.9 que os resultados obtidos para o pH a 1% (v/v) diferem em pequena escala, esta variação pode dever-se à utilização de diferentes fornecedores para o mesmo produto ou, mesmo dentro do mesmo fornecedor, podem existir variações para diferentes lotes.

Analisando os resultados da degradação ao longo do tempo, o desvio não é significativo tendo em conta que para o mesmo produto existe sempre uma variação aceitável do valor de pH.

III. Procedimento Experimental

III. Procedimento Experimental

Através de cromatografia identificaram-se e quantificaram-se a maioria dos constituintes do Vertimec Gold. Após esta quantificação a formulação foi mimetizada e, através de métodos físico-químicos, foram avaliadas as suas propriedades e comparadas.

Os reagentes utilizados são da marca Sigma-Aldrich. Salvo indicação em contrário, a água utilizada foi água ultra-pura MilliQ®, produzida através de um equipamento da marca Merck, com uma resistividade de 18.2 MΩ•cm.

III.1. Identificação de surfactantes

A identificação de surfactantes foi realizada utilizando técnicas de HPLC, AAS e cromatografia iônica.

III.1.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A análise de surfactantes através de HPLC, foi realizada com recurso a um cromatógrafo líquido da Agilent modelo 1200 series LC, com um detetor MS 6310 com analisador de massas ion-trap LC/MS e um detetor de arranjo de díodos (DAD). O software utilizado para tratamento dos dados obtidos por MS foi o 6300 Series Ion Trap LCMS e para os dados obtidos por DAD o Agilent Chemstation.

Análise de surfactantes com coluna cromatográfica (detetores de MS e de DAD)

Método

Para a análise por HPLC num equipamento com detetor MS e analisador ion-trap, foi utilizada uma coluna cromatográfica Zorbax Eclipse XDB-C18 (150*2.1 mm, 3.5µm), do fabricante Agilent Technologies.

A composição da fase móvel foi alterada ao longo do tempo de corrida (tabela III.1). O fluxo utilizado foi de 0.3mL/min. O tempo de corrida foi de 25 minutos e o *post time* foi de 10 minutos. O volume de injeção foi de 2µL.

Tabela III.1 - Gradiente utilizado no método de HPLC para identificação de surfactantes

Tempo (minutos)/Composição	Água (%)	Acetonitrilo (%)	Solução aquosa de tampão acetato de amônia (%)^c
0.00	65	30	5
1.00	65	30	5
8.00	10	85	5
25.00	10	85	5

Para a detecção por DAD, os cromatogramas foram adquiridos para $\lambda=210,220,245,254$ e 280nm .

Para a detecção por MS, a ionização foi feita em modo positivo e em modo negativo. O intervalo de massas escolhido foi de $m/z=75$ a 2000. O nebulizador foi utilizado com uma pressão de 50psi e o dry gas com um fluxo de 10L/min e temperatura de 350°C . A voltagem do cone foi de 70V.

Preparação das amostras

Pesaram-se 203.5mg de Vertimec Gold para um balão volumétrico de 25mL e aferiu-se com o eluente utilizado na fase móvel. A amostra foi colocada num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T durante 10 minutos e posteriormente filtrada com filtros de $0.2\mu\text{m}$ de porosidade.

Foi realizado o mesmo procedimento de preparação para as amostras de Alkamuls B e de Atlas G-1096 sendo que foram pesadas 201.6 e 204.7mg, respetivamente.

Análise de surfactantes sem a utilização de coluna cromatográfica

Método

A composição da fase móvel é de 65% H_2O , 30% Acetonitrilo, 5% Solução aquosa com tampão de acetato de amônia (7.78g de acetato de amônia + 2g de ácido acético + 1L de água), em modo isocrático, com um fluxo de 0.100 mL/min. O tempo de corrida foi de 1 minuto e o tempo entre corridas foi de 2 minutos. O volume de injeção foi de $2\mu\text{L}$.

A ionização foi feita por ESI em modo positivo e negativo. O intervalo de massas escolhido foi de $m/z=75$ a 2000. O nebulizador foi utilizado com uma pressão de 50psi e o dry gas com um fluxo de 10L/min e temperatura de 350°C . A voltagem do cone foi de 70V.

^c 7.78g de acetato de amônia+2g de ácido acético /1L de água

Preparação da amostra

A amostra foi preparada através de extração líquido-líquido. Para tal, numa ampola de decantação de 100mL adicionaram-se 5mL de Vertimec Gold+ 10mL de água e extraiu-se 3x com 20mL diclorometano. A água é miscível com ciclo-hexanol e por isso obtiveram-se duas fases: uma fase de ciclo-hexanol + água e uma fase contendo o diclorometano. Separaram-se as fases e pesaram-se 201.2mg de fase aquosa para 25mL do eluente utilizado na fase móvel. A amostra foi colocada num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T durante 10 minutos e posteriormente filtrada com filtros de 0.2µm de porosidade.

Preparação dos surfactantes

Os surfactantes utilizados para construir a biblioteca de espectros foram preparados pesando separadamente, 200±5mg de cada um dos compostos para um balão volumétrico de 25mL (8mg/mL) e aferiu-se com o eluente utilizado na fase móvel. A amostra foi colocada num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T, durante 10 minutos e posteriormente filtrada com filtros de 0.2µm de porosidade.

Análise de Rhodacal 70B (HPLC-DAD)

Método

Para a análise de Rhodacal 70B com recurso a um equipamento HPLC-DAD, foi utilizada uma coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (4.6*100mm, 3,5µm) do fabricante Agilent Technologies. O forno manteve-se a uma temperatura constante de 30°C. O fluxo utilizado foi de 0.5 mL/min durante 15 minutos e o λ =220nm. O volume de injeção foi de 20 µL. A % de eluente variou ao longo do tempo de corrida de acordo com a tabela III.2.

Tabela III.2 - Gradiente utilizado em HPLC para a análise do Rhodacal 70B

Tempo	%A (água com 0.1% TFA)	%B (Acetonitrilo)
0	50	50
0.5	50	50
5.0	0	100
11.0	0	100
11.1	50	50
15.0	50	50

Preparação das amostras

Para a preparação da amostra de Rhodacal 70B pesaram-se 25.2mg deste composto para um balão volumétrico de 25mL (1mg/mL) e aferiu-se o volume com acetonitrilo. Visto que a amostra não ficou completamente dissolvida em acetonitrilo, fez-se nova pesagem e aferiu-se o volume com metanol. Pesaram-se 24.5mg deste composto para um balão volumétrico de 25mL (1mg/mL). Realizaram-se duas diluições distintas desta solução: 5mL/10mL e 0.4mL/10mL sendo que o volume dos balões volumétricos foi aferido com metanol.

Para a preparação da amostra de Vertimec Gold, pesaram-se 201.4mg para um balão volumétrico de 10mL (20mg/mL) e aferiu-se com metanol. A amostra foi colocada num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T durante 10 minutos e posteriormente filtrada com filtros de 0.2µm de porosidade.

III.1.2. Espectroscopia de absorção atômica (AAS)

Para a análise de surfactantes por AAS, utilizou-se um equipamento da marca Analytik Jena Vario AAS-6. O software de tratamento de dados utilizado foi o WinAAS Versão 4.5.0.

Método

Para a análise de cálcio por AAS utilizou-se um comprimento de onda de 422.7nm. A largura de linha do comprimento de onda definida foi de 1.2nm. A lâmpada utilizada é de cátodo oco e a corrente da lâmpada é de 4.0 mA. A composição da chama é uma mistura de ar/acetileno.

Para a preparação da reta de calibração, constituída por 3 pontos (L1, L2 e L3) partiu-se de uma solução de cálcio a 1000ppm. As diluições foram realizadas de acordo com a tabela III.3 sendo que o solvente utilizado foi uma mistura de metanol:água 50:50.

Tabela III.3 - Diluições efetuadas para a reta de calibração de AAS

Nível	1ª Diluição		2ª Diluição		Conc. Final (mg/mL-ppm)
	Vol. Solução inicial (mL)	Volume do balão (mL)	Volume solução (mL)	Volume do balão (mL)	
L1	1.00	50	0.50	20	0.5
L2	1.00	50	1.00	20	1.00
L3	1.00	50	2.00	20	2.00

Preparação das amostras

Foram preparadas soluções stock para o Vertimec Gold e para o Rhodacal 60/BE. Para tal, pesaram-se 25.5mg de Vertimec Gold para um balão volumétrico de 25mL. Utilizou-se como solvente uma mistura de metanol e água 50:50. Procedeu-se da mesma forma para o Rhodacal 60/BE sendo que foram pesados 24.8mg.

A amostra de Rhocadal 60/BE foi diluída 1/100 (0.01 mg/mL) utilizando a mesma mistura anteriormente utilizada como solvente e, de seguida, 1/10 (0.001mg/mL) utilizando novamente o mesmo solvente.

III.1.3. Cromatografia iónica

Para a análise de surfactantes por cromatografia iónica, recorreu-se a um cromatografo iónico da marca Dionex ICS-90. Os cromatogramas foram registados com recurso a um software Chromeleon Client Program.

Método

Foi utilizada uma coluna Thermoscientific Dionex Ionpac™ CS16 5*250mm. O eluente foi preparado através da diluição de 2.6mL de ácido metanosulfónico para um volume de água de 2L. Como supressor foi utilizada uma solução aquosa de hidróxido de tetrabutylamónio 200mM, para a sua preparação pesaram-se 258.46g de uma solução aquosa de hidróxido de tetrabutylamónio 40% para um balão volumétrico de 2L, perpez-se o volume com água. Foi definido para este método um fluxo de 1mL/min e um volume de injeção de 10µL.

Preparação das amostras

A amostra de Vertimec Gold foi preparada pesando 101.2mg deste composto para um balão volumétrico de 10mL. Perpez-se o volume com água. A amostra de Agnique® SLS 90 P foi preparada pesando 26.1mg deste composto para um balão volumétrico de 25mL (1mg/mL). Perpez-se o volume com água e realizou-se uma diluição de 1/10 (0.1mg/mL), sendo que foi utilizada novamente água como solvente.

III.2. Identificação e quantificação de outros excipientes

A identificação e quantificação de outros excipientes no Vertimec Gold foram realizados através de cromatografia líquida e gasosa, utilizando detetores de FID, MS e DAD.

A análise por GC-FID foi realizada com recurso a um equipamento Agilent 6890N com detector FID.

A análise por GC/MS foi realizada com recurso a um equipamento GC/MS com da marca Perkin-Elmer. As soluções utilizadas foram as mesmas utilizadas na quantificação por GC-FID.

III.2.1. Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de ionização de chama (GC-FID)

Método 1

A coluna utilizada foi uma HP5 (30 m x 320 mm x 0.25 μ m). A temperatura definida para o injetor foi de 200°C e para o detetor foi de 250°C. O fluxo do gás de arraste (azoto) foi de 5.8 mL/min. enquanto que o fluxo de *makeup* (azoto) foi de 20 mL/min. A temperatura inicial do forno foi de 50°C, temperatura esta que se manteve durante 5 minutos.. A temperatura foi aumentada a uma escala de 8°C/min até atingir os 280°C. O tempo de corrida é de 35.75 minutos As injeções foram realizadas com um volume de injeção de 1 μ L e um rácio de split de 10:1. Os cromatogramas foram processados através do software OpenLab.

Tendo em conta que os padrões e amostra foram preparados a título meramente qualitativo, não foram anotados pesos. O solvente utilizado foi diclorometano.

Método 2

Foi realizada uma otimização do método 1 com o objetivo de diminuir o tempo de corrida. As temperaturas do forno foram alteradas: a temperatura inicial do forno foi de 50°C, temperatura esta que se manteve durante 5 minutos. A temperatura foi aumentada a uma escala de 20°C/min até atingir os 240°C. O tempo de corrida é de 14.5 minutos.

Preparação das amostras

As soluções das amostras a injetar no GC-FID foram preparadas de acordo com a tabela III.4. Para uma melhor homegeneização recorreu-se a um equipamento de ultra-sons marca VWR modelo USC 600T, onde se colocaram as amostras por 5 minutos.

Tabela III.4- Preparação das soluções para quantificação por GC-FID

Composto	Quantidade pesada		Diluição (mL)	Eluente
		(mg)		
Vertimec Gold	A1	26.9	50	Diclorometano
	A2	26.5		
	A3	26.5		
	B1	24.6	10	
	B2	24.8		
	B3	25.0		
BHT	L1	30.1	10*0.16/20	Diclorometano
	L2	30.1	10*0.32/20	
	L3	30.1	10*0.32/10	
1,2-Propanodiol	L1	15.5	100	Diclorometano
	L2	31		
	L3	64.3		
Ciclo-hexanol	L1	13.5	100	Diclorometano
	L2	27		
	L3	43		

III.2.2. Cromatografia Gasosa acoplada a um detetor de espectrometria de massa (GC/MS)

Método

A coluna utilizada foi uma HP5 (30 m x 320 mm x 0.25 µm). A temperatura definida para o injetor foi de 280°C. O fluxo do gás de arraste (hélio) foi de 1 mL/min. A temperatura inicial do forno foi de 50°C, temperatura esta que se manteve durante 5 min. A temperatura foi aumentada a uma escala de 8°C/min até atingir os 280°C. As injeções foram realizadas com um volume de injeção de 2µL e um rácio de split de 20:1.

O modo de ionização do detetor de massas utilizado é de impacto electrónico e foi utilizado o modo positivo. O intervalo de massas escolhido foi de $m/z=50$ a 300. A energia do fragmentador utilizada foi de 70eV e o multiplicador de 300V. A análise foi realizada em *full-scan*. Os cromatogramas foram processados através do software TurboMass 5.4.2.

Preparação das soluções

As soluções de BHT, 1,2-propanodiol e ciclo-hexanol, foram preparadas pesando 25.2, 24.5 e 23.8mg de cada um destes compostos, respetivamente, para balões volumétricos individuais. O volume foi preenchido com diclorometano.

A solução de Vertimec Gold foi preparada pesando 72.4mg deste composto para um balão volumétrico de 25mL. O volume foi preenchido com diclorometano.

III.3. Formulação

A um copo de precipitação de 500 mL adicionaram-se 336,13g de ciclo-hexanol e 71.41 g de 1,2-propanodiol. Sob agitação, adicionaram-se 36,12g de Alkamuls B e 36,16g de Atlas G-1096. Após homogeneização da mistura, adicionaram-se 10.2g de BHT ao longo de 1 hora, até dissolução completa. Por fim, adicionou-se a ingrediente ativo – 9.68 g de Abamectina 95% - sob agitação. Ao fim de 10 minutos a agitação foi interrompida, não existia sólido em suspensão.

Foi realizado o espectro de IV da formulação e do Vertimec Gold com um recurso a um espectrofotómetro FTIR marca B-Optics, modelo ALPHA-P com nº de série 102484.

III.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR foi realizada através de um espectrofotómetro da marca B-optics, modelo ALPHA-P. Este equipamento opera num modo de ATR, não sendo necessária a preparação da amostra.

III.3.2. Análise das formulações com recurso a HPLC/MS

Método

Para a análise por HPLC num equipamento com detetor MS e analisador ion-trap, foi utilizada uma coluna cromatográfica Zorbax Eclipse XDB-C18 150*2.1 mm, 3.5µm, do fabricante Agilent Technologies.

O método utilizado foi igual ao utilizado em III.1.1., para o método de HPLC/MS com a utilização de coluna cromatográfica.

Preparação das amostras

Pesaram-se 204.5mg de Vertimec Gold para um balão volumétrico de 25mL e aferiu-se com o eluente utilizado na fase móvel. A amostra foi colocada num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T durante 10 minutos e posteriormente filtrada com filtros de 0.2µm de porosidade.

A preparação da solução da formulação foi realizada do mesmo modo, sendo que foram pesados 198.6mg desta.

III.3.3. Teor em substância ativa

O método utilizado para a análise do teor em Abamectina foi o mesmo utilizado na identificação de Rhodacal 70B por HPLC-DAD, com a exceção do comprimento de onda utilizado, que neste método foi 245nm.

Na tabela III.5 encontram-se as massas pesadas para as diferentes formulações para quantificação de Abamectina.

Tabela III.5 – Massa pesada para preparação das soluções de quantificação de Abamectina

	Padrão	Formulação (T0)	Formulação (T14)	Vertimec Gold (T0)	Vertimec Gold (T14)
A- m(mg)	20.5	303.1	290.5	298.4	297.2
B- m(mg)	20.1	305.2	296.0	283.3	298.1

Para a preparação do padrão, foi pesada a quantidade descrita na tabela III.5 para um balão de 10mL. Perfez-se o volume com acetonitrilo e colocou-se num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T durante 5 minutos. Após esse tempo colocou-se a solução à temperatura ambiente e realizou-se uma diluição de 2mL para um balão volumétrico de 50mL, perfez-se o volume com uma mistura de acetonitrilo:água com TFA (Ácido trifluoracético) 0.1% 50:50. Realizou-se nova diluição de 2.5mL para um balão de 10mL e utilizou-se novamente uma mistura de acetonitrilo:água com TFA (Ácido trifluoracético) 0.1% 50:50 como solvente.

Para a preparação das amostras, foi pesada a quantidade descrita na tabela III.5 para balões individuais de 25 mL e o volume foi preenchido com acetonitrilo. As amostras foram colocadas num equipamento ultra-sons marca VWR modelo USC 600T durante 10 minutos e foi feita uma diluição de 1/10 e o volume total preenchido com uma mistura de acetonitrilo:água com TFA 0.1% 50:50.

III.3.4. Estabilidade de emulsão

O teste de estabilidade de emulsão foi realizada de acordo com o descrito no CIPAC MT36.1.⁴⁸

Cinco mililitros do produto foram misturados com água dura standard D (342 ppm de CaCO₃), de modo a obter-se 100 mL de uma emulsão aquosa.

A estabilidade desta emulsão foi então avaliada em função da quantidade de “óleo” ou “creme” que se separam durante o período em que a emulsão permanece em repouso.

Emulsificação Inicial

Encheu-se uma proveta de 100 mL com 95 mL de água dura D e colocou-se em num banho termostatzado da marca Grand Instruments modelo SB50 para estabilizar a uma temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Lançou-se, lentamente, 5 mL de amostra na superfície da água, colocou-se a tampa na proveta e inverteu-se 1 vez.

Após 30 segundos observou-se se a mistura emulsificou espontaneamente, originando 100 mL de uma emulsão uniforme.

Estabilidade da Emulsão em repouso

Inverteu-se a proveta 10 vezes e deixou-se em repouso á temperatura constante de $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A inversão da proveta foi feita de modo a imprimir-lhe uma rotação de 180° , demorando na operação aproximadamente 2 segundos

Anotou-se o volume de “óleo” ou “creme” que se separaram após 30 minutos e 2 horas de repouso. Para melhor observar a separação das fases formadas, utilizou-se uma lâmpada para iluminar a proveta.

Foi realizado o mesmo procedimento para água dura standard A (20ppm de CaCO_3). A preparação das soluções para a água dura standard A e D pode ser consultada no CIPAC MT18.1.1 e 18.1.4.⁵⁶

III.3.5. Persistência de espumas

O teste de persistência de espumas foi realizado de acordo com o descrito no CIPAC 47.1.⁴⁹

Pesou-se 1g de Vertimec Gold e da formulação realizada para uma proveta contendo 95 mL de água dura standard D (342 ppm de CaCO_3).

Tapou-se a proveta esta foi invertida 30 vezes durante 1 minuto (Inverter a proveta significa que esta deve descreve um ângulo de 180° e volta à posição inicial. Este movimento demora aproximadamente 2 segundos). Deixou-se a proveta em repouso durante 1 minuto e anotou-se o volume de espuma formada.

III.3.6. Determinação da densidade

A determinação da densidade foi realizada com recurso a um densímetro automático Mettler-Toledo 300M. Foi utilizado o método ASTM D 4052-96.⁴⁷

Antes da leitura das amostras, o sistema foi limpo. As amostras foram lidas diretamente através da sua inserção no equipamento com recurso a uma seringa. Após a leitura das amostras, é impresso um talão com a densidade da amostra lida em g/cm^3 . O sistema foi limpo após cada leitura individual utilizando primeiramente água destilada, seguido de metanol e finalmente purgado com ar.

II.3.7. Determinação do pH a 1%

A determinação do pH foi realizada de acordo com um método desenvolvido internamente, que tem como base o método CIPAC MT 75.3.⁵⁰

Pesou-se 0.9856g de Vertimec Gold, transferiu-se para uma proveta contendo cerca de 50 mL de água e fez-se o volume a 100 mL.

Agitou-se vigorosamente durante 1 minuto, tempo após o qual se deixou sedimentar durante 1 minuto. Recorrendo a um eléctrodo de pH Mettler Toledo modelo Seven Easy pH registou-se o valor do pH e temperatura.

Realizou-se o mesmo procedimento para a formulação, sendo que foram pesados 0.9702g deste composto.

IV. Conclusão

IV. Conclusão

A formulação tem-se tornado a tecnologia chave através da qual companhias de agroquímicos conseguem diferenciar os seus produtos. A introdução de novos produtos é um fator importante na renovação de qualquer marca.

Neste sentido, foi desenvolvida uma formulação tendo como comparação o Vertimec Gold, da Syngenta. Foram quantificados os componentes descritos na FDS do Vertimec Gold e foi identificado um surfactante, um óleo de rícino, sendo que, à exceção da possibilidade de se encontrarem em quantidades vestigiais, não existem dados experimentais que sugiram a presença de outros surfactantes.

Não foi possível quantificar o óleo de rícino etoxilado no entanto, com a aquisição de colunas cromatográficas próprias para a análise de surfactantes, como por exemplo a gama Thermo Scientific Acclaim™ Surfactant Plus e/ou com a alteração do método cromatográfico utilizado, testando diferentes eluentes até ser obtida uma melhor resolução entre picos, é esperado que no futuro tal seja possível.

A realização dos espectros de IV do Vertimec Gold e da formulação produziu resultados satisfatórios na medida em que não foram observadas diferenças entre ambas as formulações no entanto, estes não permitiram comparar a percentagem de surfactantes presentes em cada uma delas, visto a % de solvente e de co-solvente serem demasiado elevadas. A destilação de ambas as formulações e a realização de novos espectros de IV poderão eliminar esta dificuldade e permitir que o IV seja uma ferramenta mais conclusiva nesta situação.

Foram obtidos excelentes resultados no teste de estabilidade a 54°C durante 14 dias no entanto, o facto de um formulado passar no teste de estabilidade a quente não significa que este seja estável no período dos 2 anos. Por esse motivo, é recomendado que seja feita o estudo de estabilidade à temperatura ambiente – teste em estudo real. Este teste é normalmente realizado a 25°C e avaliado durante 2 anos em vários momentos distintos. Neste teste, seriam avaliadas as propriedades avaliadas no teste de estabilidade a quente (54°C durante 14 dias).

Avaliou-se a aparência do Vertimec Gold e da formulação após o teste de estabilidade a 0°C durante 7 dias sendo que não foi observada cristalização em nenhum dos casos. Este método, descrito no CIPAC (MT 39.3), é o mais adequado para controlo da qualidade e usos regulamentados no entanto, não é suficiente no desenvolvimento de uma boa formulação. Uma solução para este problema seria o armazenamento das formulações a diferentes temperaturas, de modo a simular a alteração de temperaturas ao longo do tempo.

Apesar de não ter sido quantificado o óleo de rícino etoxilado, os dados obtidos apontam para que mais nenhum componente se encontre presente e, nesse caso, usou-se como componente de balanço este óleo de rícino etoxilado. Tendo em conta que as propriedades físico-químicas do Vertimec Gold e a formulação mimetizada podem se considerar equivalentes, sobretudo no caso da Estabilidade e Emulsão, pode se concluir que a mimetização é uma reprodução aceitável do Vertimec Gold.

V. Bibliografia

V. Bibliografia

1. Leite, P. P., *Frédéric Velge fotobiografia*. 1960.
2. Eilam, E., *Reversing: Secrets of Reverse Engineering*. Wiley Publishing, Inc: 2005; pp 3-4.
3. Knowles, A., Recent developments of safer formulations. *Environmentalist* **2008**, *28*, 35-44.
4. Farn, R. J., *Chemistry and Technology of Surfactants*. Blackwell Publishing: 2006; pp 1-8.
5. Farn, R. J., *Chemistry and Technology of Surfactants*. Blackwell Publishing: 2006; pp 24-26.
6. Rosen, M. J.; Kunjappu, J. T., *Surfactants and interfacial phenomena*. 4th ed.; Wiley: 2012; pp 6-7.
7. Farn, R. J., *Chemistry and Technology of Surfactants*. Blackwell Publishing: 2006; p 38.
8. Khanam, A. J.; Sheikh, M. S.; Khan, I. A.; Kabir ud, D., Aggregational behavior of alkanediyl- α,ω -bis(tetradecyldimethylammonium) dibromide series with ionic and nonionic hydrotropes at different temperatures. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2014**, *20* (5), 3453-3460.
9. Farn, R. J., *Chemistry and Technology of Surfactants*. Blackwell Publishing: 2006; p 33.
10. Khan, I. A.; Khanam, A. J.; Sheikh, M. S.; Kabir ud, D., Influence of ionic and nonionic hydrotropes on micellar behavior of a cationic gemini surfactant butanediyl-1,4-bis(dimethylcetylammmonium bromide). *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, *359* (2), 467-473.
11. Rosen, M. J.; Kunjappu, J. T., *Surfactants and interfacial phenomena*. 4th ed.; Wiley: 2012; pp 285-297.
12. Porter, M. R., *Handbook of surfactants*. Springer Science+Business Media, LLC: 1993; p 36.
13. Denkov, N. D.; Marinova, K. G.; Tcholakova, S. S., Mechanistic understanding of the modes of action of foam control agents. *Advances in Colloid and Interface Science* **2014**, *206*, 57-67.
14. Rosen, M. J.; Kunjappu, J. T., *Surfactants and interfacial phenomena*. 4th ed.; Wiley: 2012; pp 336-358.
15. Jin, X.; Streett, D. A.; Dunlap, C. A.; Lyn, M. E., Application of hydrophilic-lipophilic balance (HLB) number to optimize a compatible non-ionic surfactant for dried aerial conidia of *Beauveria bassiana*. *Biological Control* **2008**, *46*, 226-233.
16. Rosen, M. J.; Kunjappu, J. T., *Surfactants and interfacial phenomena*. 4th ed.; Wiley: 2012; pp 368-388.
17. Juan, M. T.-S.; Eduardo, G.-M.; Pablo, A. L.-M., Analysis of Surfactants in Environmental Samples by Chromatographic Techniques. Chapter 7, 2012.
18. Linde AG. Flame ionisation detector . Gas chromatography with HiQ specialty gases. http://hiq.linde-gas.com/internet.lg.hiq.global/en/images/Application%20note_Flame%20Ionisation%20Detector899_92468.pdf (accessed 2015-09-22).
19. SeQaunt AB, *A pratical guide to ion chromatography*. Sweden, 2007.
20. Thermo Scientific Inc. Atomic Absortion Methods Manual 2008. <http://www.thermoscientific.com/content/dam/tfs/ATG/CMD/cmd-support/ice-3000-series/operations-and-maintenance/operators-manuals/AAiCE-Methods-Manual-V5.pdf> (accessed 2015-09-22).
21. Rhône-Poulenc, *Surfactants & Specialities for Plant Protection*. Chapter 2, 1994.
22. Vigneron, S.; Hermia, J.; Chaouki, J., Characterization and control of odours and VOC in the processo industries. In *Studies in environmental science 61*, Elsevier, Ed.1994; p 180.
23. The DOow Chemical Company, DOW™ Nonylphenol Ethoxylate Surfactants. http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_093f/0901b8038093fcd4.pdf?filepath=productsafety/pdfs/noreg/233-00257.pdf&fromPage=GetDoc (accessed 2015-05-21).
24. Iqbal, M.; Bhatti, I. A., Gamma radiation/H₂O₂ treatment of a nonylphenol ethoxylates: Degradation, cytotoxicity, and mutagenicity evaluation. *Journal of Hazardous Materials* **2015**, *299*, 351-360.

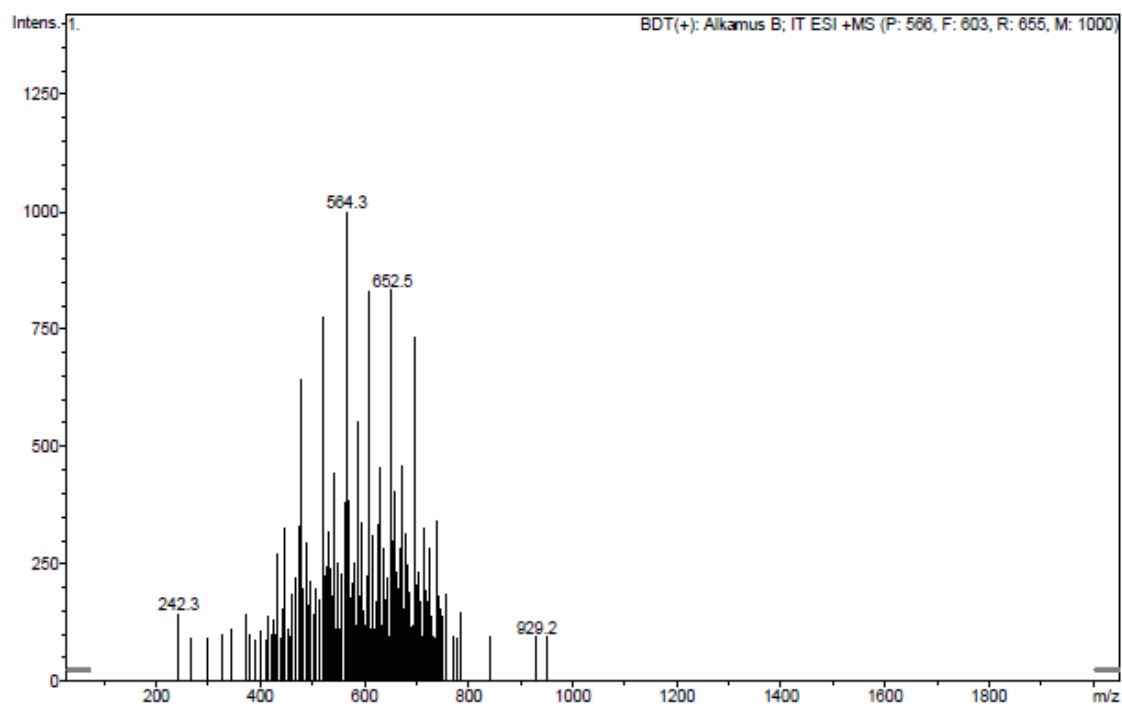
25. Cretier, G.; Podevin, C.; Rocca, J. L., Analysis of aliphatic alcohol ethoxylates in terms of alkyl and ethylene oxide chain lengths by reversed-phase liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Journal of Chromatography A* **2000**, 874 (2), 305-310.
26. Nasioudisa, A.; Velde, J. V.; Heeren, R. M. A.; Brinka, O. F. V. d., Detailed molecular characterization of castor oil ethoxylates by liquid chromatography multistage mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2011**, 1218 (40), 7166-7172.
27. Reekmans, S., Chemistry and Technology of Agrochemical Formulations Springer Science+Business Media, B.V. : 1998; p 179.
28. Collins, H. M.; Goss, G. R.; Hopkins, M. J., Pesticide formulations and applications systems. 16 ed.; ASTM International: 1997; p 143.
29. Sigma-Aldrich, Poly(ethylene glycol) sorbitol hexaoleate. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/466409?lang=pt®ion=PT> (accessed 2015-09-19).
30. Abamectin. In *The e-Pesticide Manual*, BCPC: 2011.
31. Syngenta. Vertimec Gold MSDS. <http://www3.syngenta.com/country/nl/nl/Documents/Veiligheidsinformatiebladen/VertimecGold.pdf> (accessed 2015-03-22).
32. Yehye, W. A.; Rahman, N. A.; Ariffin, A.; Hamid, S. B. A.; Alhadi, A. A.; Kadir, F. A.; Yaeghoobi, M., Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 101, 295-312.
33. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J., *Spectrometric identification of organic compounds*. John Wiley & Sons, Inc.: State University of New York, 2005.
34. Acclaim Surfactant Plus LC Columns. <http://www.dionex.com/en-us/products/columns/lc/specialty/acclaim-surfactant-analysis/acclaim-surfactant-plus/lp-113575.html> (accessed 30-08-2015).
35. Thermo Scientific Inc., High-Capacity Carboxylate-Functionalized Column for Disparate Sodium and Ammonium Concentrations. <http://www.dionex.com/en-us/products/columns/ic-rfic/cation-packed/ionpac-cs16/lp-73228.html>.
36. Rambla-Alegre, M.; Esteve-Romero, J.; Carda-Broch, S., Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. *Journal of Chromatography A* **2012**, 1232, 101-109.
37. Horwitz, W., Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs. *Analytical Chemistry* **1982**, 54 (1), 66A-77A.
38. Brito, N.; Junior, O.; Polese, L.; Ribeiro, N., Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente* **2003**, 13, 129-146.
39. Ribani, M.; Bottoli, C.; Collins, C.; Jardim, I.; Melo, L., Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. Nova* **2004**, 27 (5), 771-780.
40. Silva, J. M.; Zini, C. A.; Camarão, E. B., Aplicação da cromatografia gasosa bidimensional abrangente com microdetector de captura de elétrons para determinação de agrotóxicos em sedimentos. *Quim. Nova* **2011**, 34 (6), 962-967.
41. Reichenbacher, M.; Popp, J., Challenges in Molecular Structure Determination. Springer, Ed. New York, pp 31-32.
42. Collaborative International Pesticides Analytical Council, CIPAC. <http://www.cipac.org/> (accessed 2015-06-07).
43. El-Shiekh, Y. W. A.; Radwan, A. O., Physico-chemical evaluation of broad spectrum herbicide (glyphosate isopropyl ammonium 48%) liquid formulations of highly desirable samples in local market *Nature and Science* **2011**, 9 (8), 111-121.
44. Collins, H. M.; Goss, G. R.; Hopkins, M. J., Pesticide formulations and applications systems. 16 ed.; ASTM International: 1997; p 54.
45. CIPAC MT 39.3, *Low temperature stability of liquid formulations* Dobrat W, Martijn A, editors; CIPAC Handbook J. Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.: Harpenden, England, 1995; p 126.
46. CIPAC MT 46.3, *Accelerated storage procedure*. Dobrat W, Martijn A, editors; CIPAC Handbook J. Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.: Harpenden, England, 2000; p 128.
47. Standard Test Method for Density, Relative Density, and API Gravity of Liquids by Digital Density Meter. Annual book of ASTM standards: West Conshohocken, PA, 1998; Vol. 05.02, pp 683-686.

48. CIPAC MT 36.3, *Emulsion characteristics and re-emulsification properties*. Dobrat W, Martijn A, editors; CIPAC Handbook F. Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.: Harpenden, England, 1995; p 108.
49. CIPAC MT 47.1, *Persistent foaming*. Dobrat W, Martijn A, editors; CIPAC Handbook F. Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.: Harpenden, England, 1995; p 152.
50. CIPAC MT 75.3, *Determination of pH values*. Dobrat W, Martijn A, editors; CIPAC Handbook J. Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.: Harpenden, England, 2000; p 131.
51. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, Generation of storage stability data for agricultural chemical products. <http://apvma.gov.au/node/1042> (accessed 2015-06-07).
52. Bruker. Attenuated Total Reflection (ATR)– a versatile tool for FT-IR spectroscopy. https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/OpticalSpectroscopy/FT-IR/ALPHA/AN/AN79_ATR-Basics_EN.pdf (accessed 2015-09-28).
53. McMurry, J., *Organic Chemistry*. 7 ed.; Thomson Brooks/Cole: Belmont, 2008.
54. ASTM D4052 - 96, *Standard Test Method for Density and Relative Density of Liquids by Digital Density Meter*. ASTM International: pp 1-5.
55. Sapeac Agro AM017, Density of liquids by digital density.
56. CIPAC MT 18, *Standard Waters*. Dobrat W, Martijn A, editors; CIPAC Handbook F. Collaborative International Pesticides Analytical Council Ltd.: Harpenden, England, 1995; pp 61-62.

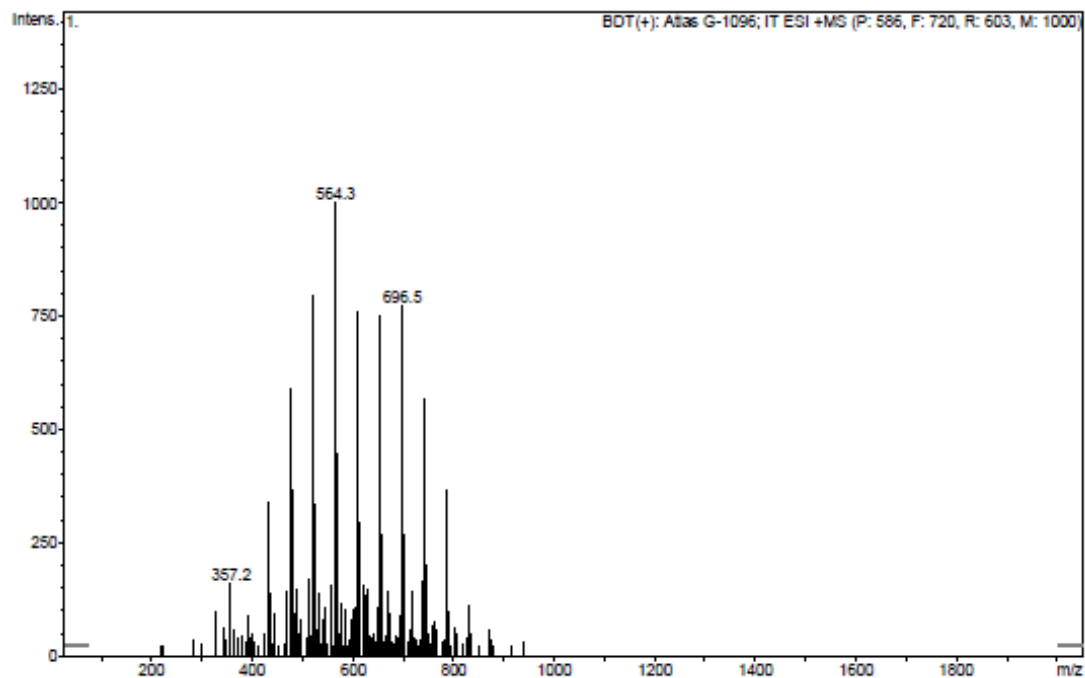
Anexo

Anexo A – Espectros de massa obtidos para o Alkamuls B e para o Atlas G-1096 por HPLC/MS sem utilização de coluna cromatográfica

Anexo A1- Espectro de massa do Alkamuls B em modo positivo (HPLC/MS)

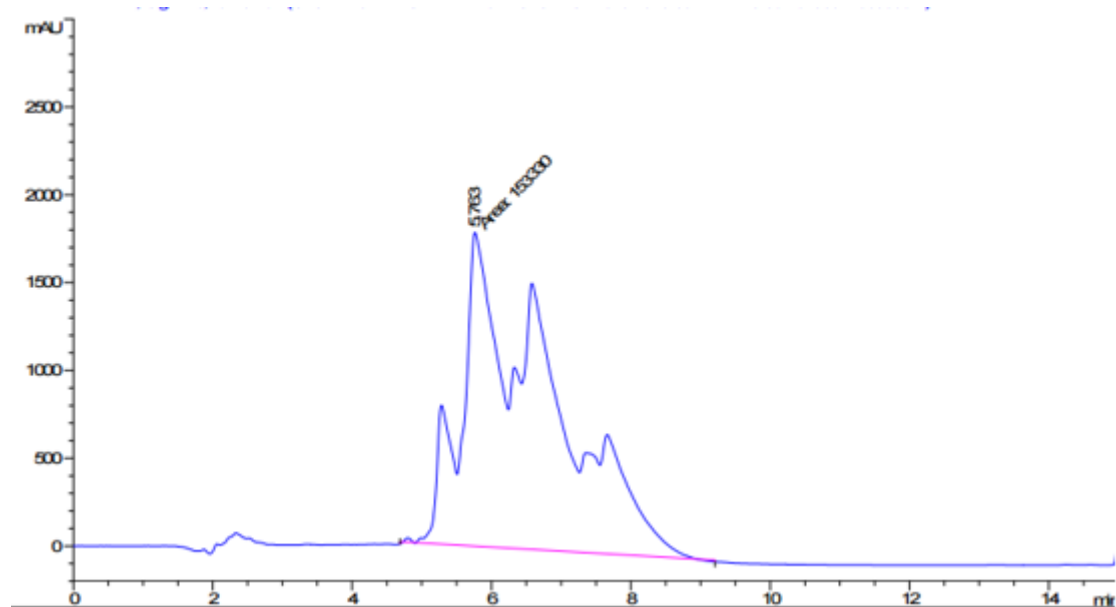


Anexo A2- Espectro de massa do Atlas G-1096 em modo positivo (HPLC/MS)

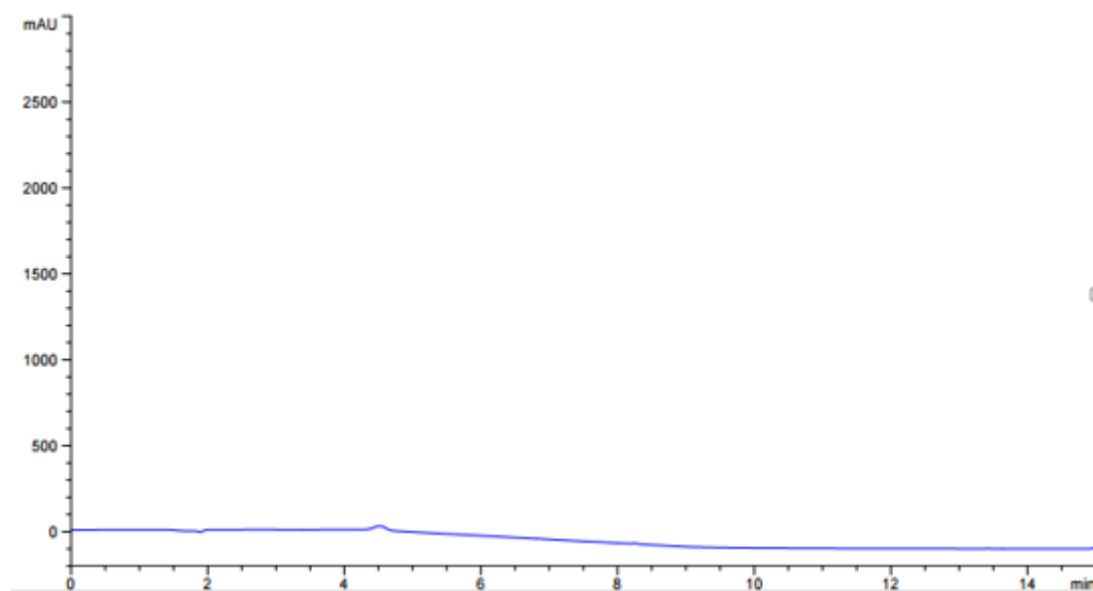


Anexo B – Cromatogramas obtidos na identificação de Rhodacal 70B por HPLC-DAD

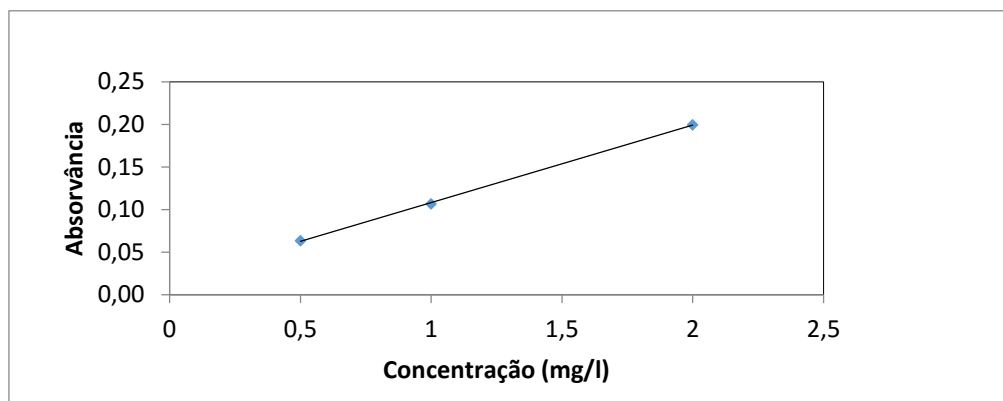
Anexo B1- Cromatograma obtido por HPLC-DAD para o Rhodacal 70B a 0.1mg/mL



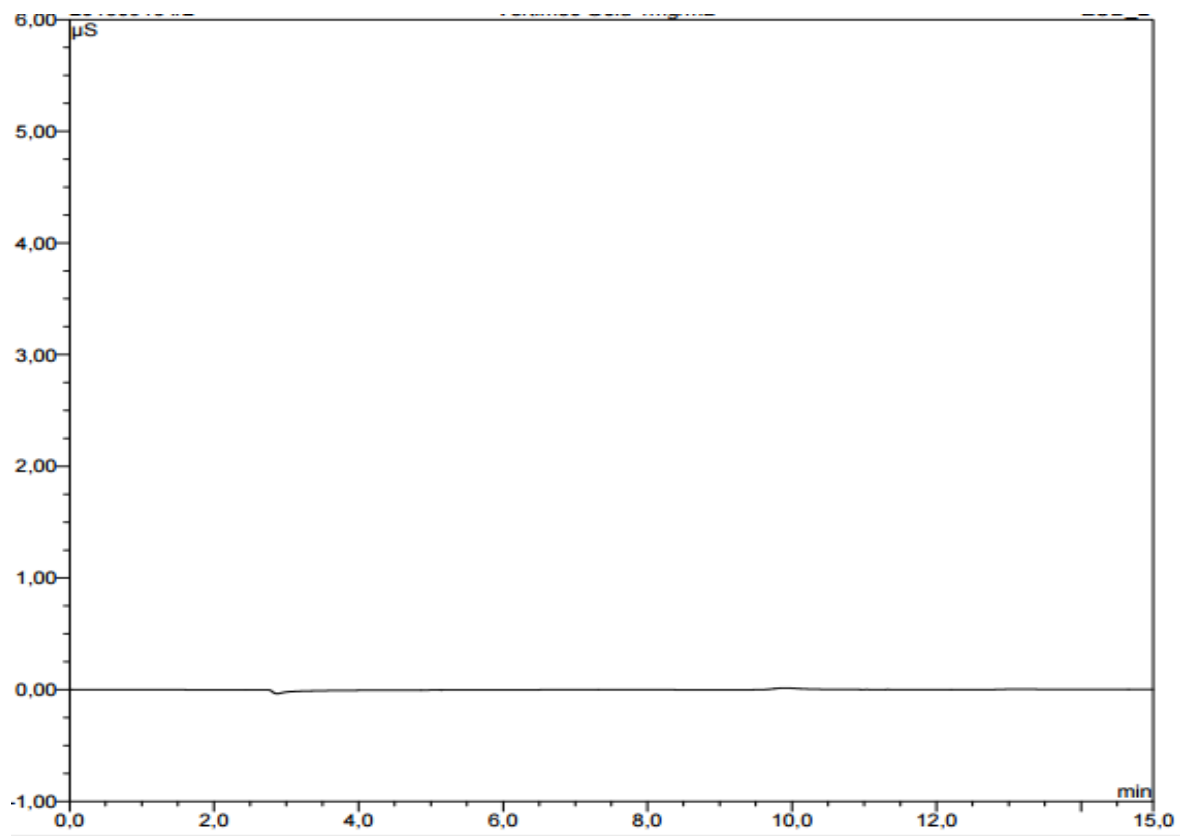
Anexo B2- Cromatograma obtido por HPLC-DAD para o Vertimec Gold a 20mg/mL



Anexo C- Retra de calibração para o cálcio, obtida por AAS

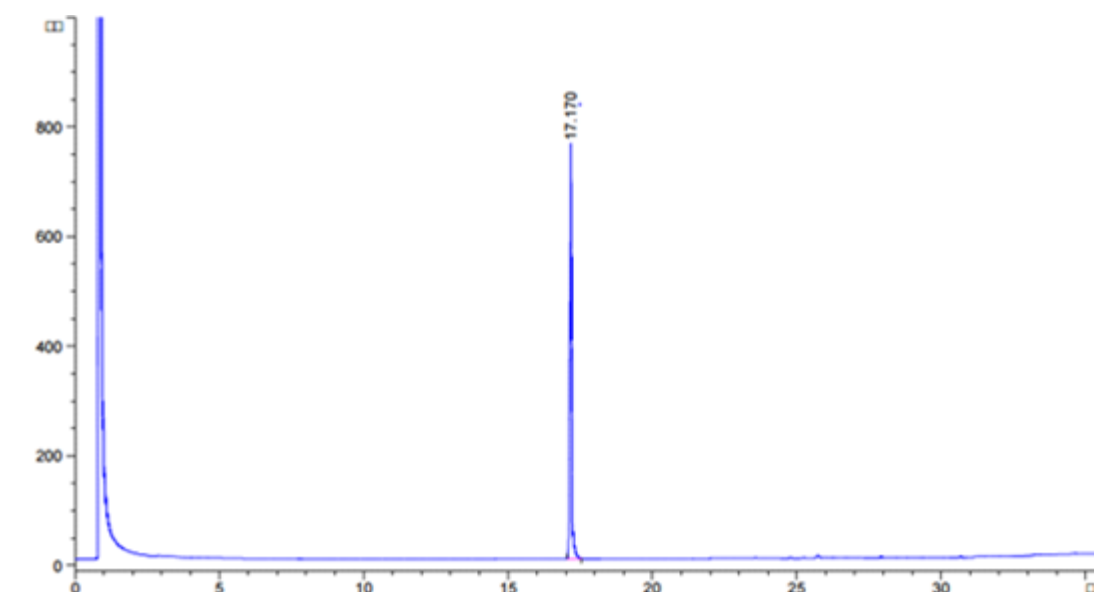


Anexo D – Cromatograma obtido por cromatografia iônica para o Vertimec Gold

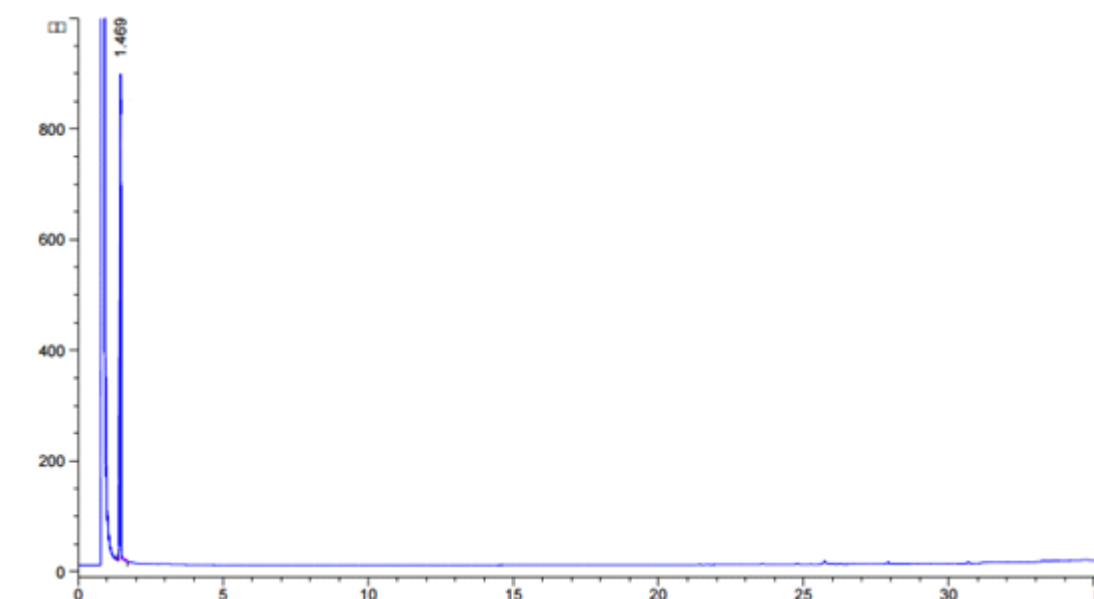


Anexo E- Cromatogramas representativos obtidos por GC-FID para o BHT, 1,2-propanodiol, ciclo-hexanol e Vertimec Gold. Método 1. O eixo do x representa o tempo em minutos e o eixo do y unidades de intensidade de corrente, em pico-ampere (pA)

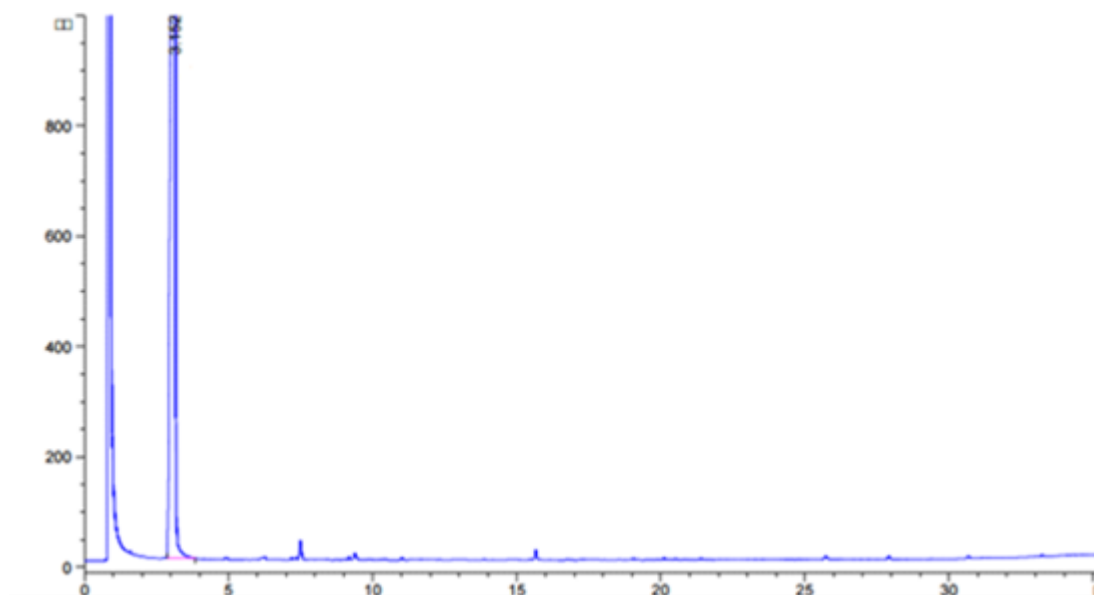
Anexo E1 – Cromatograma obtido por GC-FID para o BHT



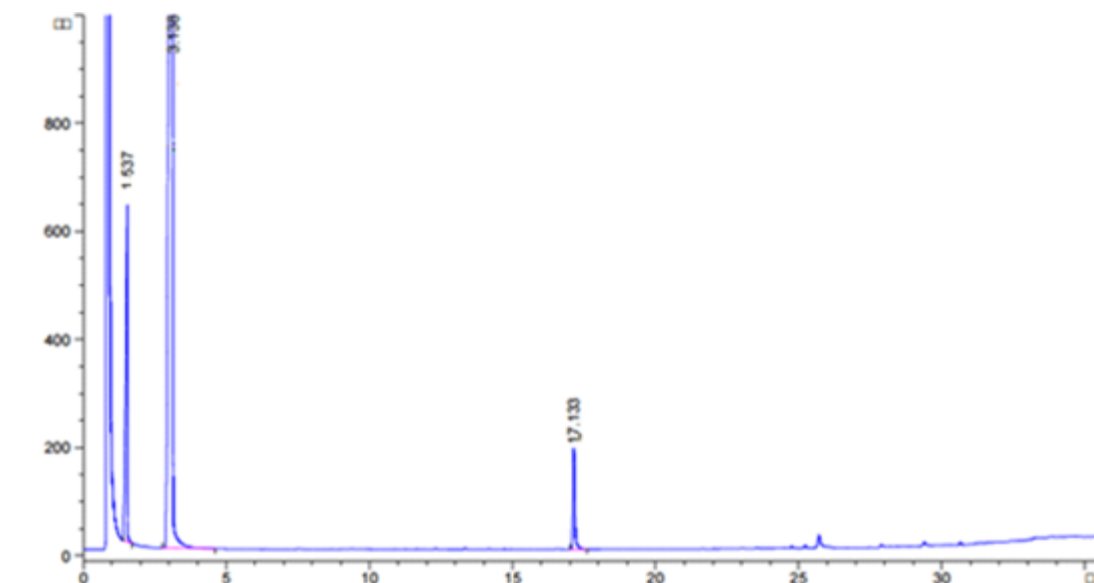
Anexo E2 – Cromatograma obtido por GC-FID para o 1,2-propanodiol



Anexo E3 – Cromatograma obtido por GC-FID para o ciclo-hexanol

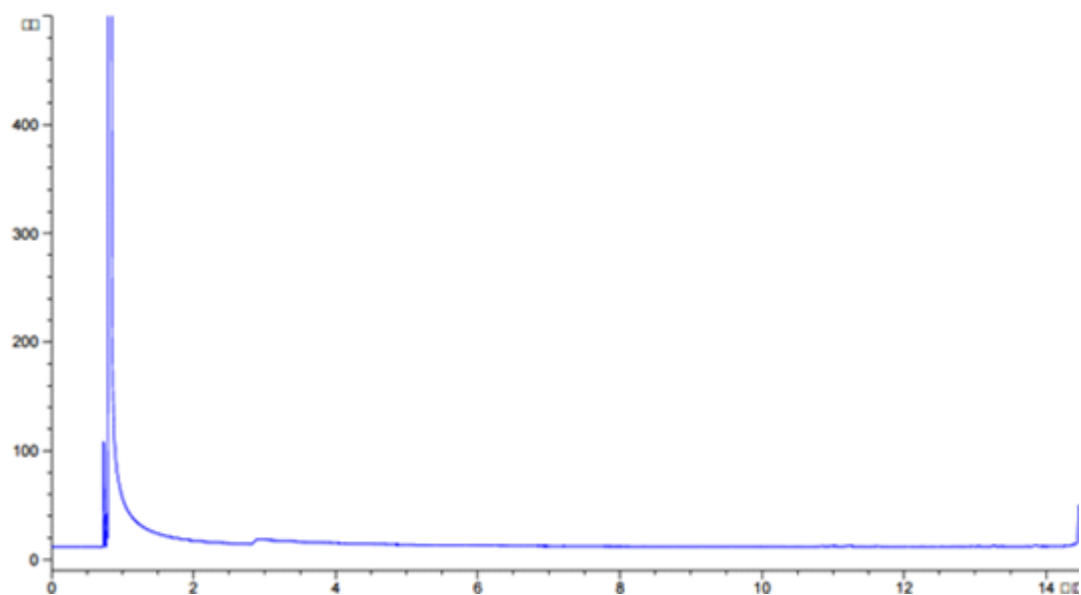


Anexo E4 - Cromatograma obtido por GC-FID para o Vertimec Gold

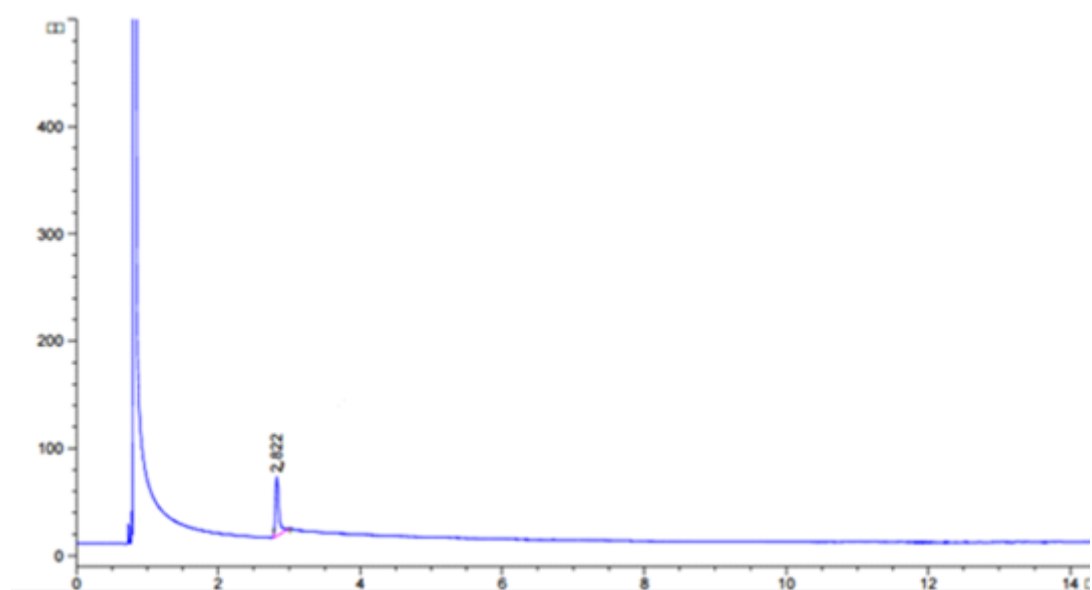


Anexo F- Cromatogramas representativos obtidos por GC-FID para o BHT, 1,2-propanodiol, ciclo-hexanol e Vertimec Gold. Método 2. O eixo do x representa o tempo em minutos e o eixo do y unidades de intensidade de corrente, em pico-ampere (pA)

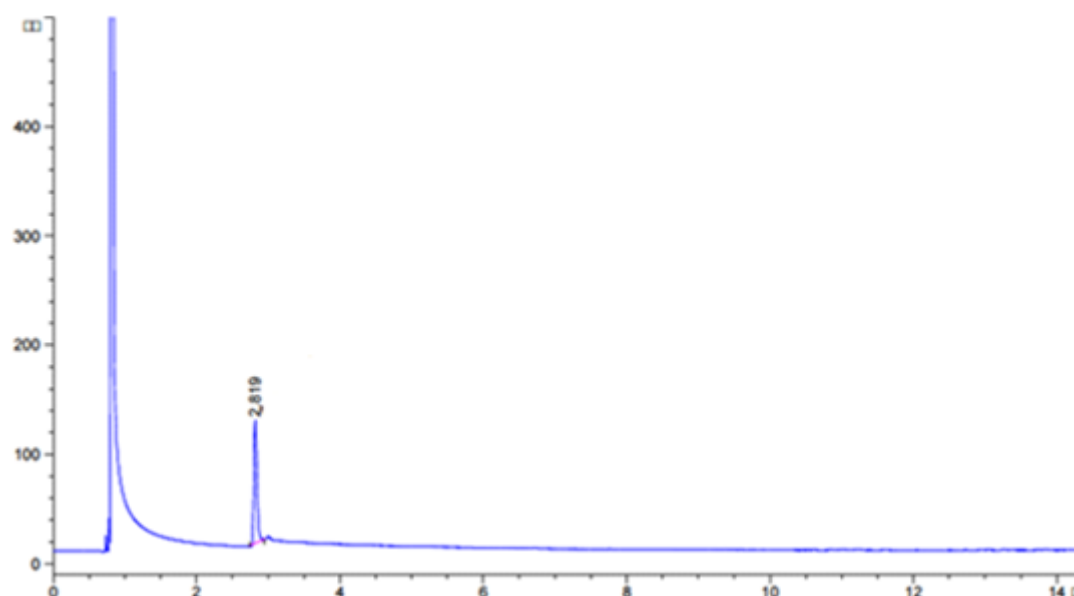
Anexo F1 – Cromatograma obtido por GC-FID para o diclorometano (branco)



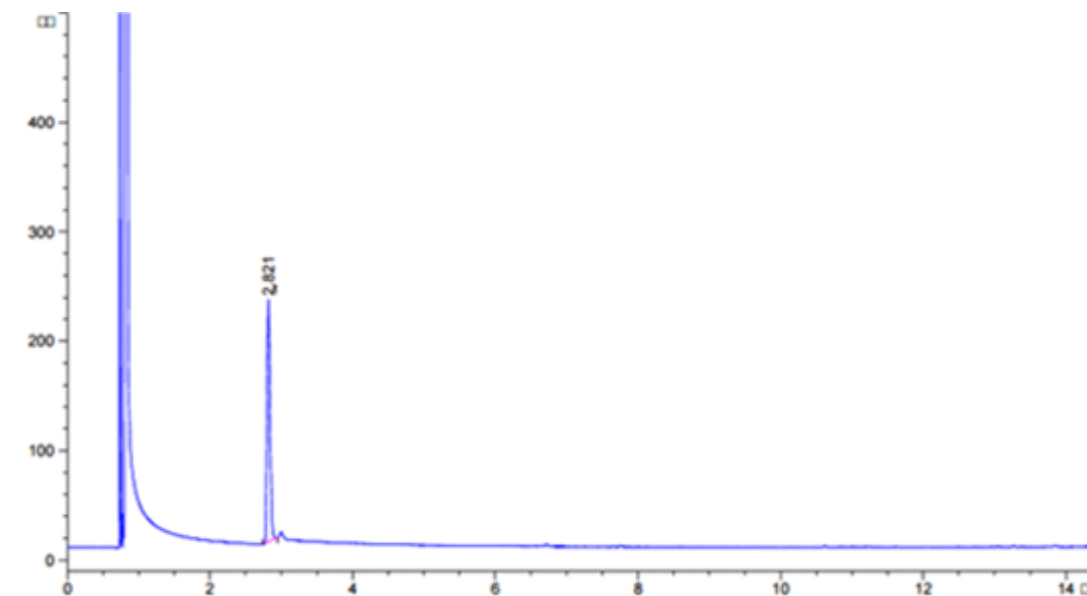
Anexo F2 – Cromatograma obtido por GC-FID para o ciclo-hexanol (L1)



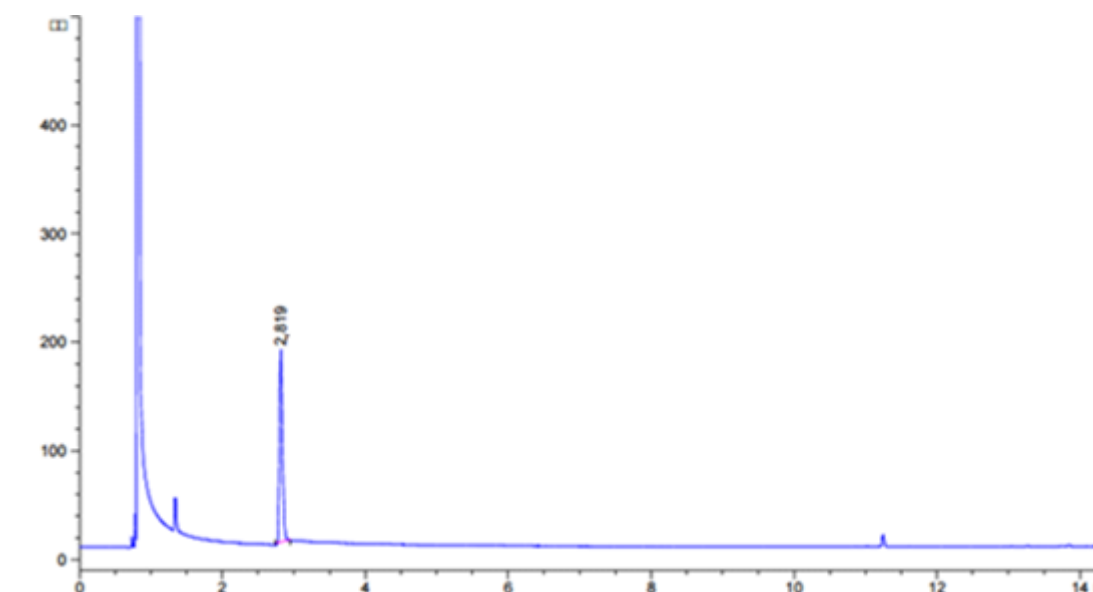
Anexo F3 – Cromatograma obtido por GC-FID para o ciclo-hexanol (L2)



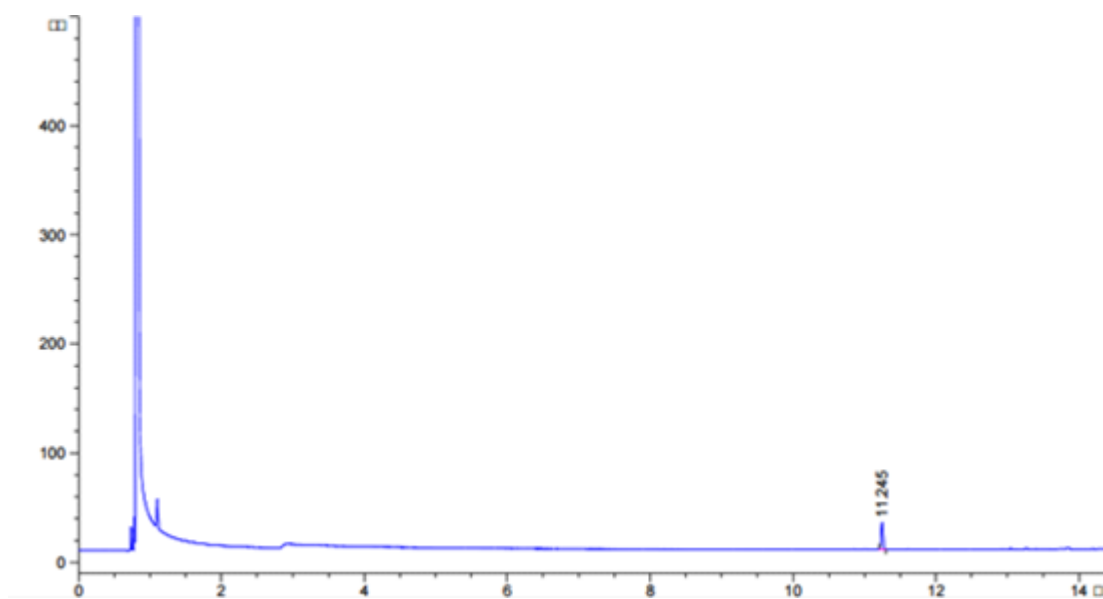
Anexo F4 – Cromatograma obtido por GC-FID para o ciclo-hexanol (L3)



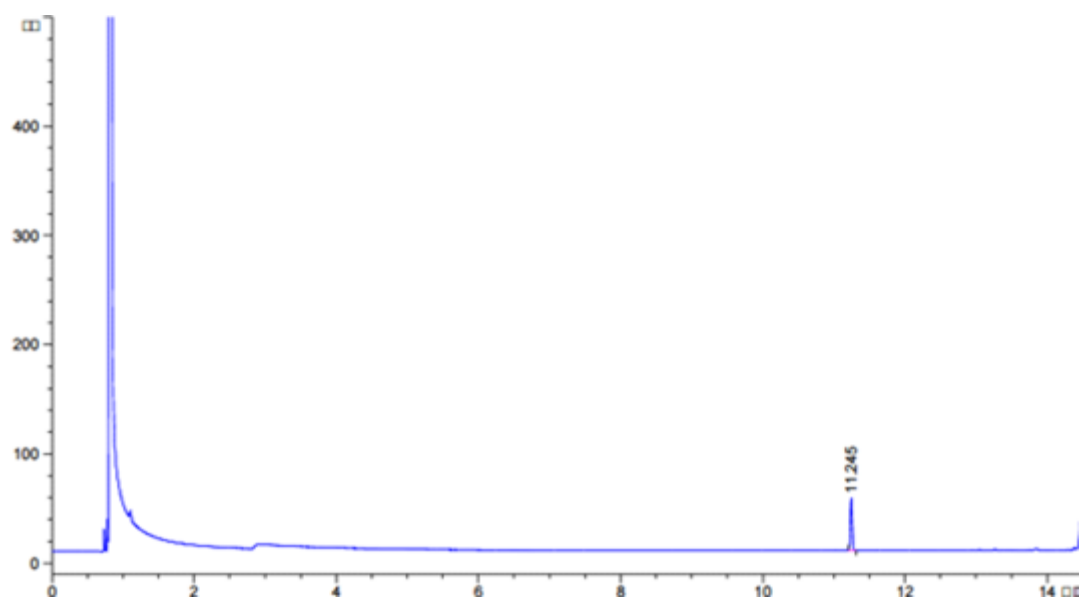
Anexo F5 – Cromatograma obtido por GC-FID para o Vertimec Gold (A1)



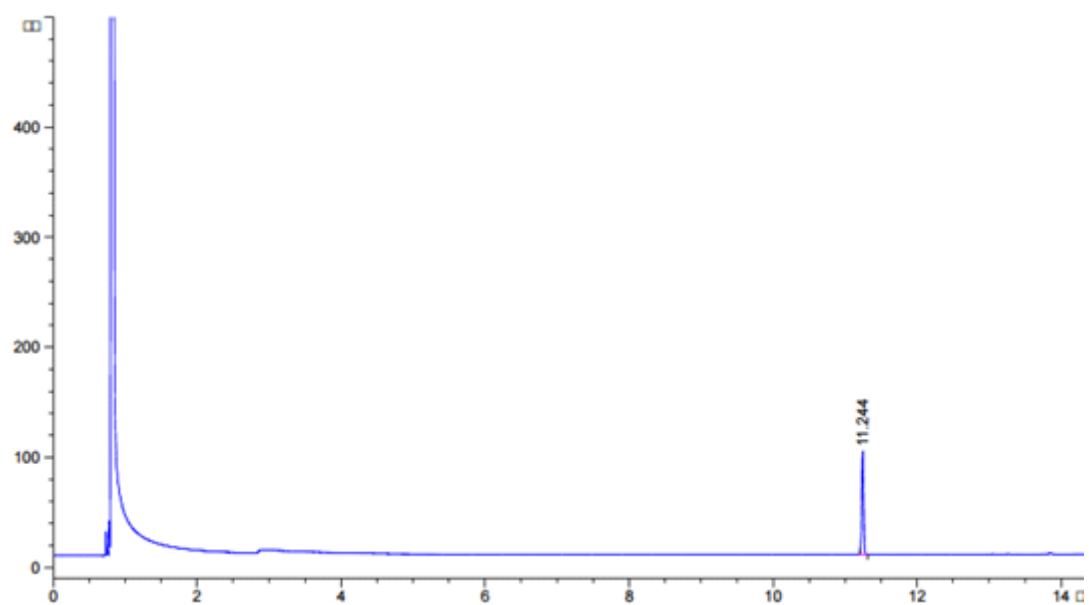
Anexo F6 – Cromatograma obtido por GC-FID para o BHT (L1)



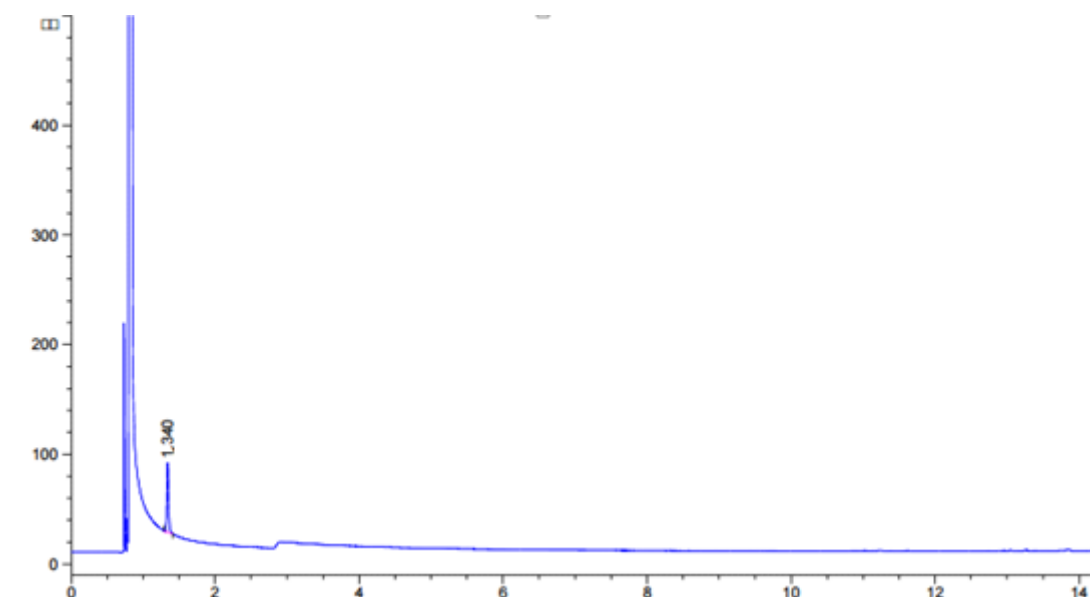
Anexo F7 – Cromatograma obtido por GC-FID para o BHT (L2)



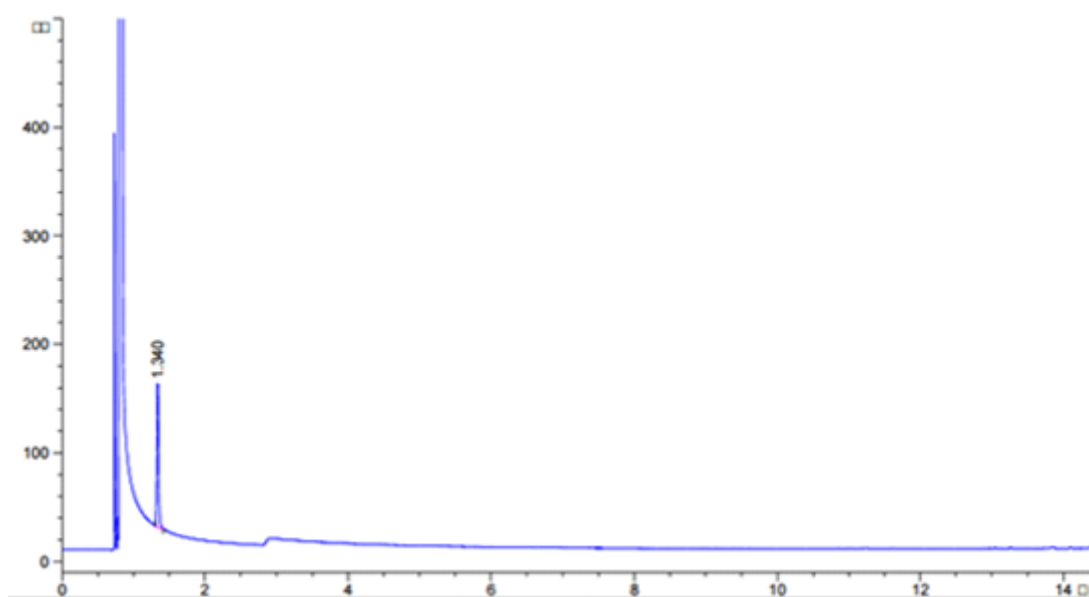
Anexo F8 – Cromatograma obtido por GC-FID para o BHT (L3)



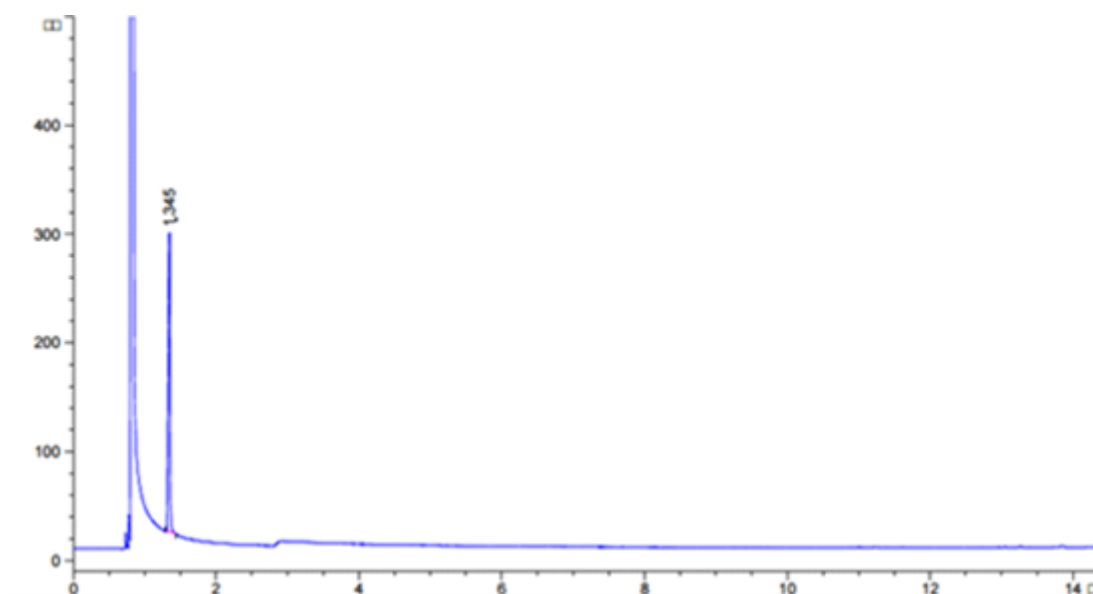
Anexo F9 – Cromatograma obtido por GC-FID para o 1,2-propanodiol (L1)



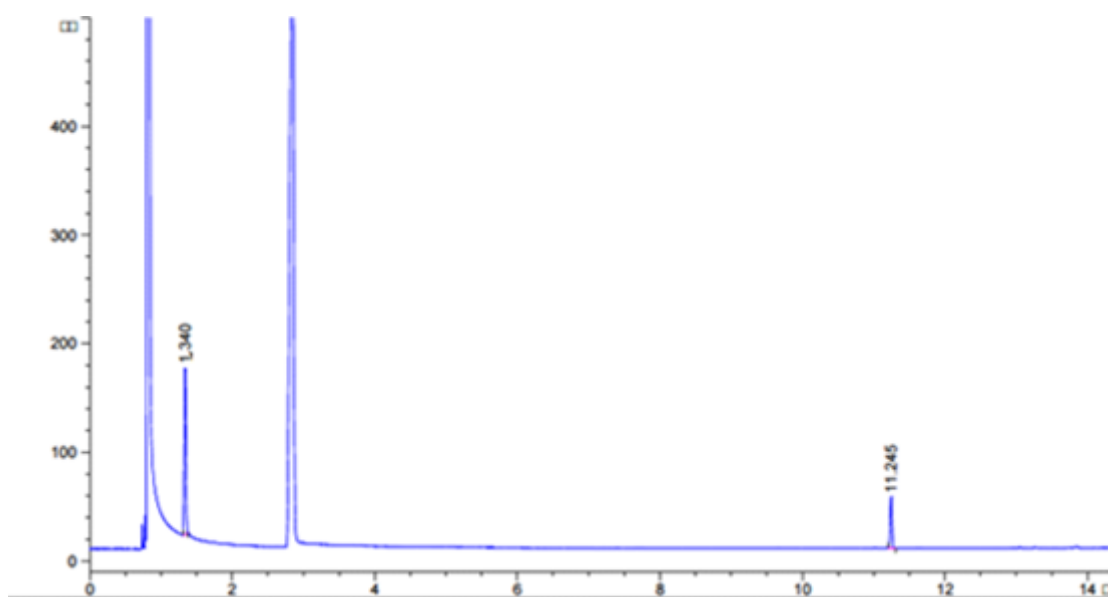
Anexo F10 – Cromatograma obtido por GC-FID para o 1,2-propanodiol (L2)



Anexo F11 – Cromatograma obtido por GC-FID para o 1,2-propanodiol (L3)

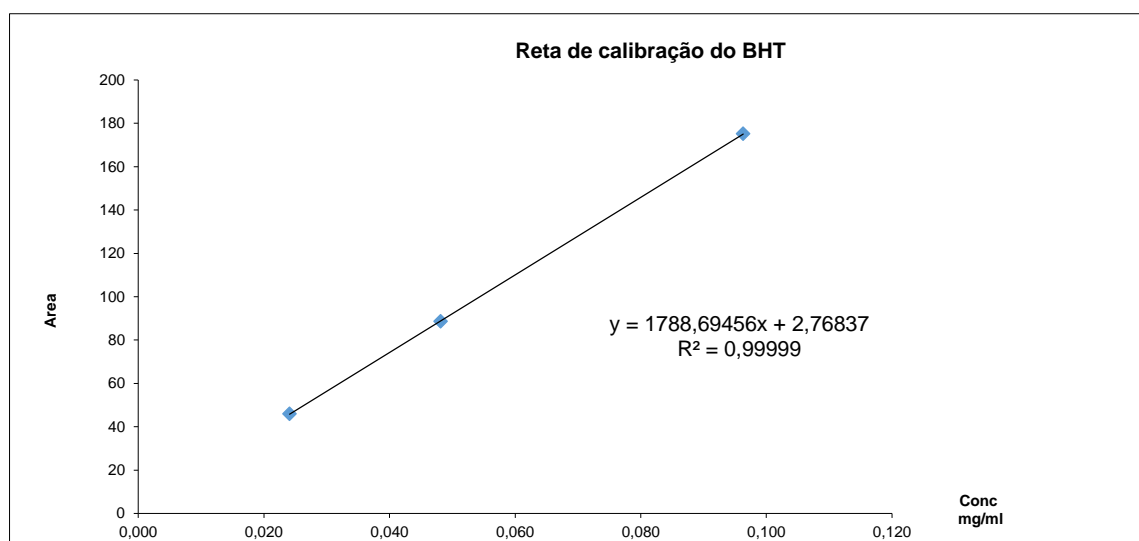


Anexo F12 – Cromatograma obtido por GC-FID para o Vertimec Gold (B1)

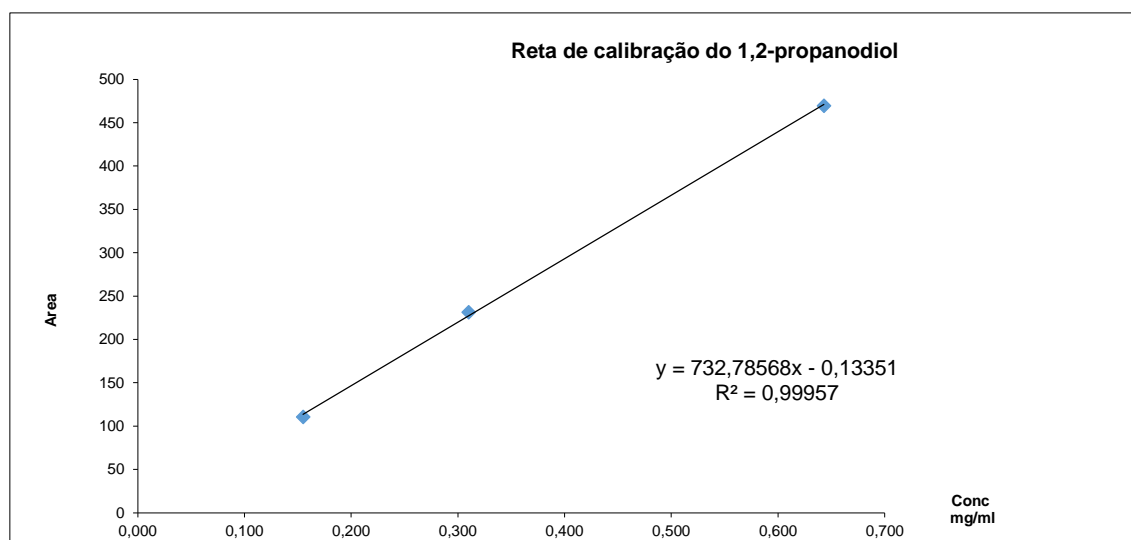


Anexo G – Retas de calibração obtidas por GC-FID para a quantificação de BHT, 1,2-propanodiol e ciclo-hexanol

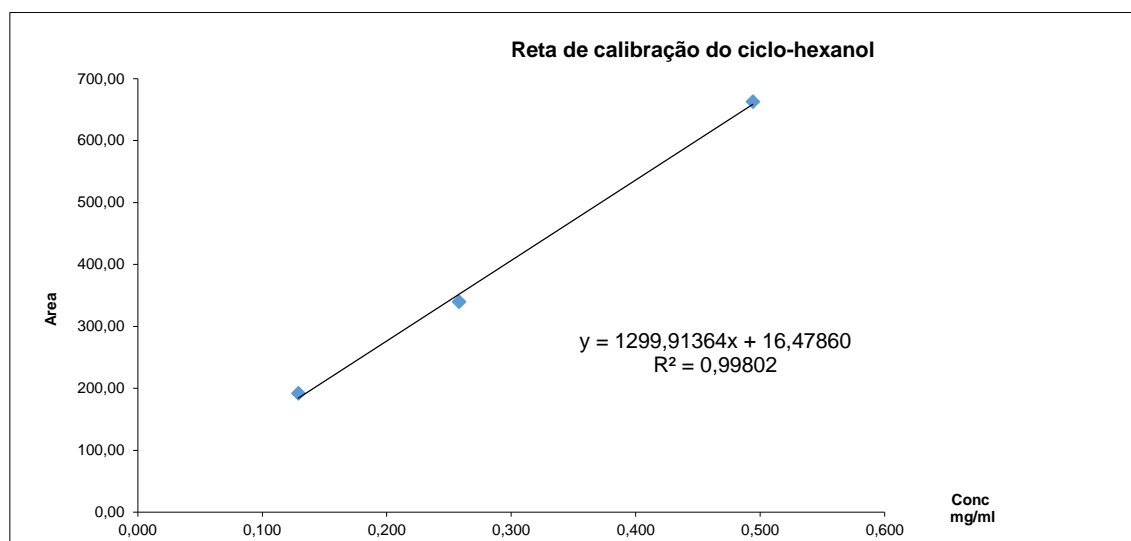
Anexo G1 – Reta de calibração para o BHT



Anexo G2 – Reta de calibração para o 1,2-propanodiol

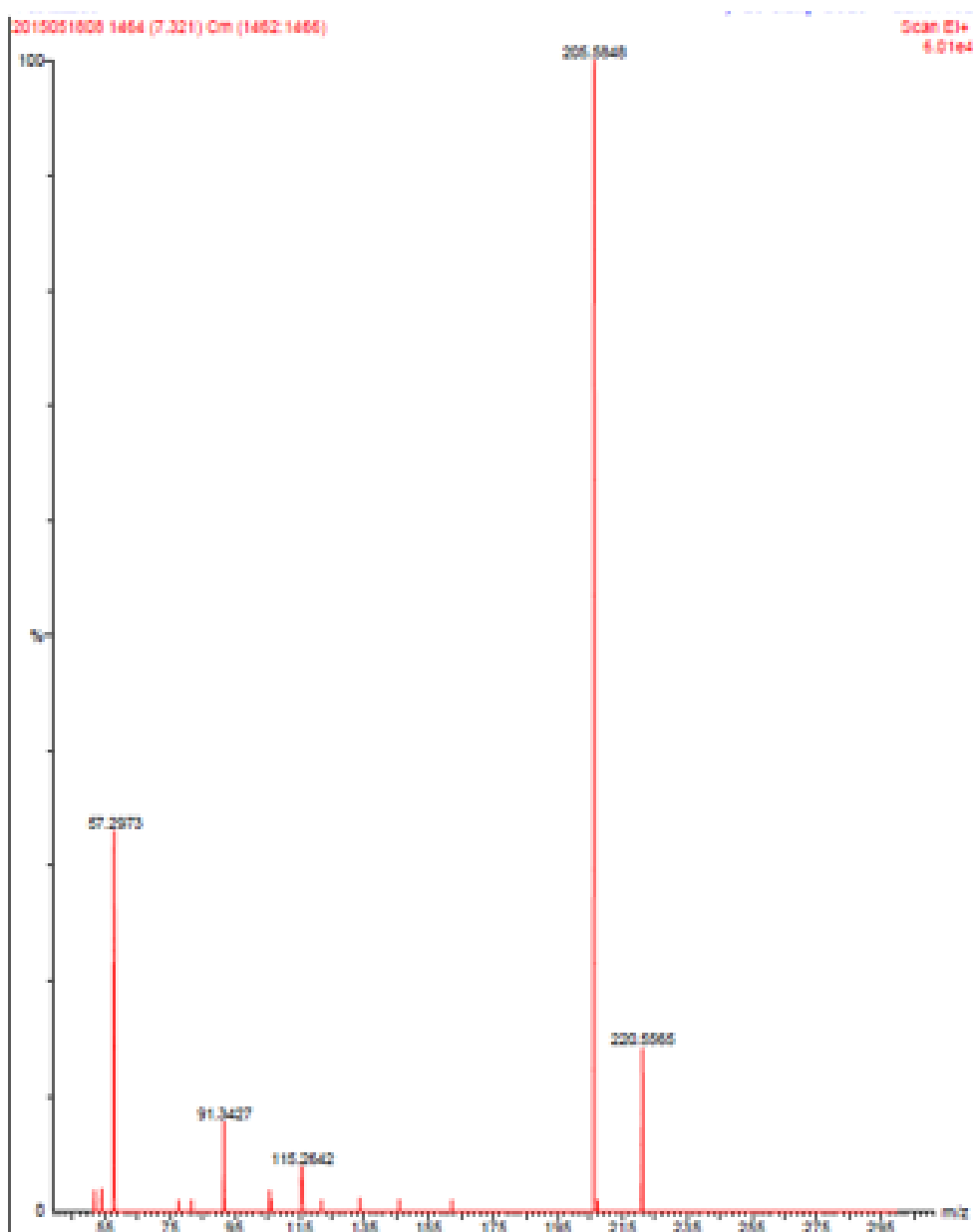


Anexo G3 – Reta de calibração para o ciclo-hexanol

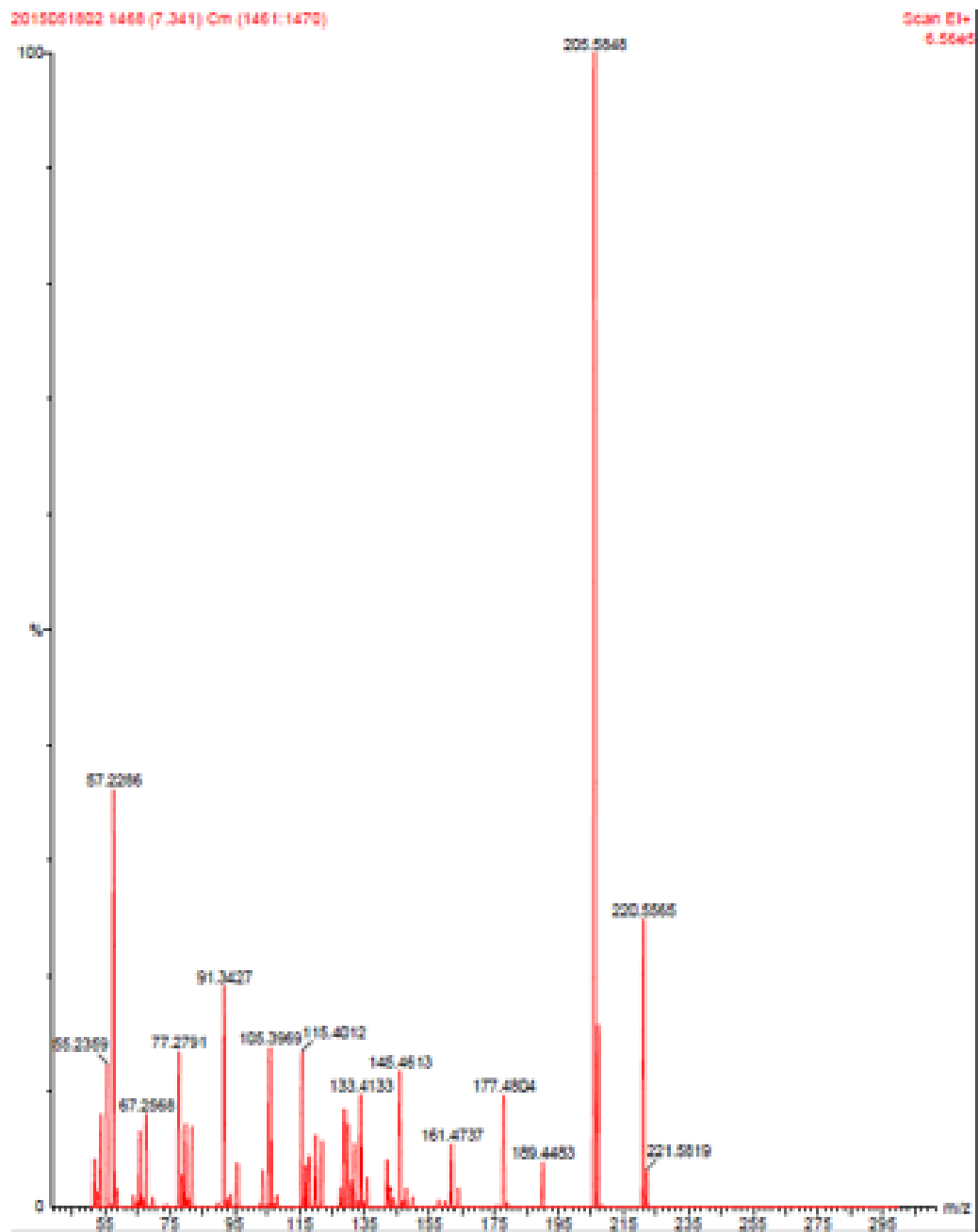


Anexo H – Espectros de massa obtidos para o BHT, 1,2-propanodiol e para o ciclo-hexanol no Vertimec Gold e para cada um dos padrões individualmente injetados

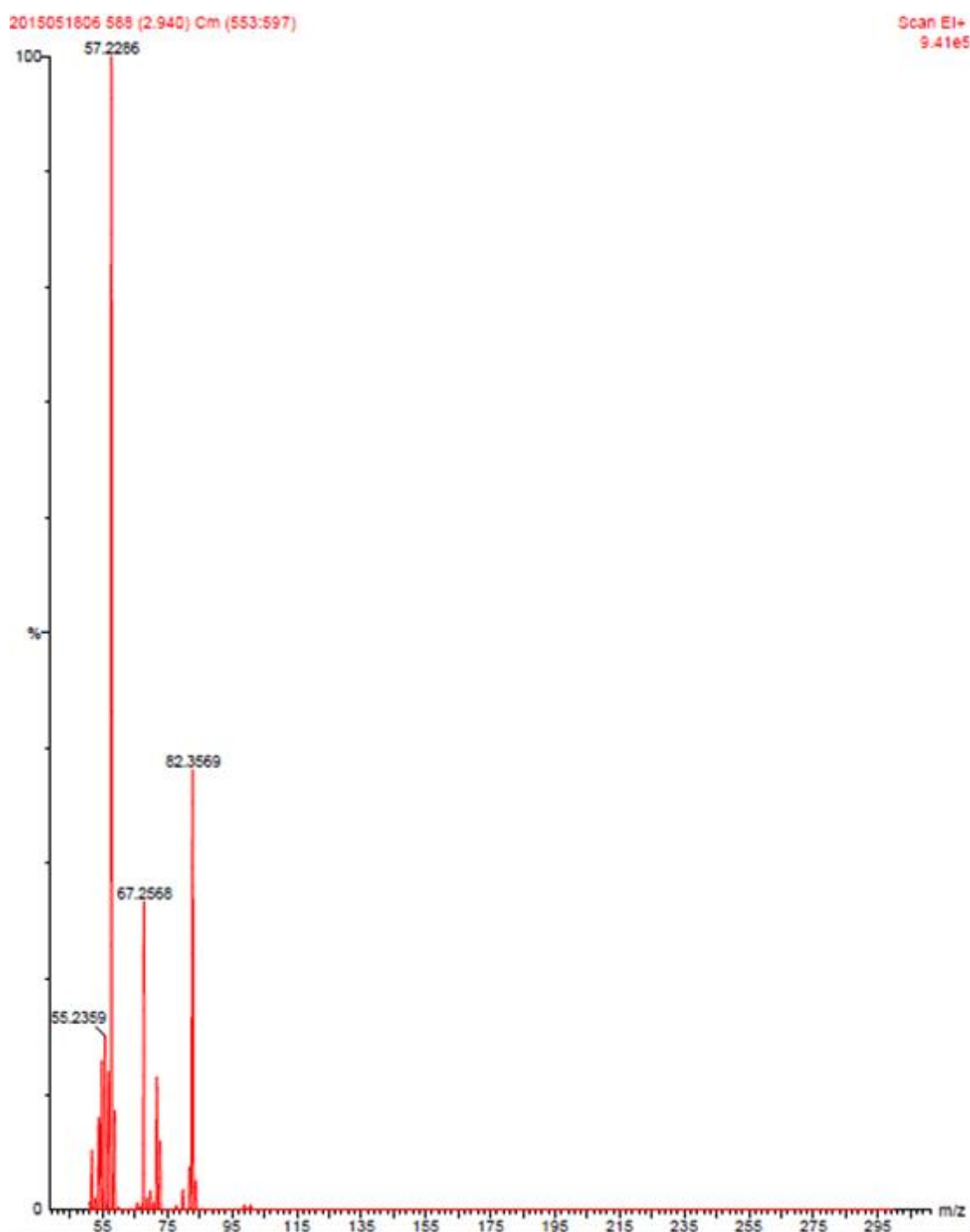
Anexo H1- Espectro de massa do BHT no padrão



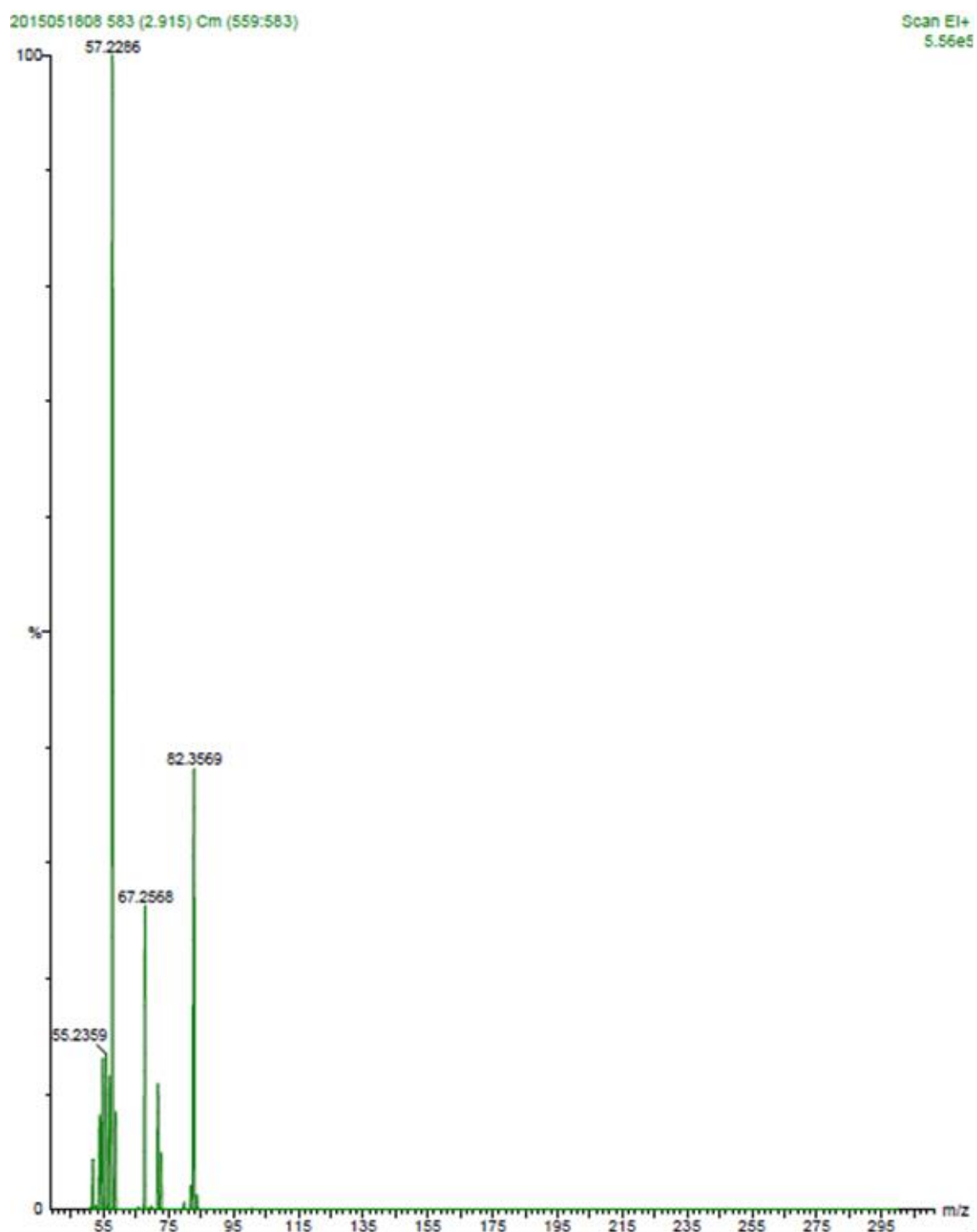
Anexo H2- Espectro de massa do BHT no Vertimec Gold



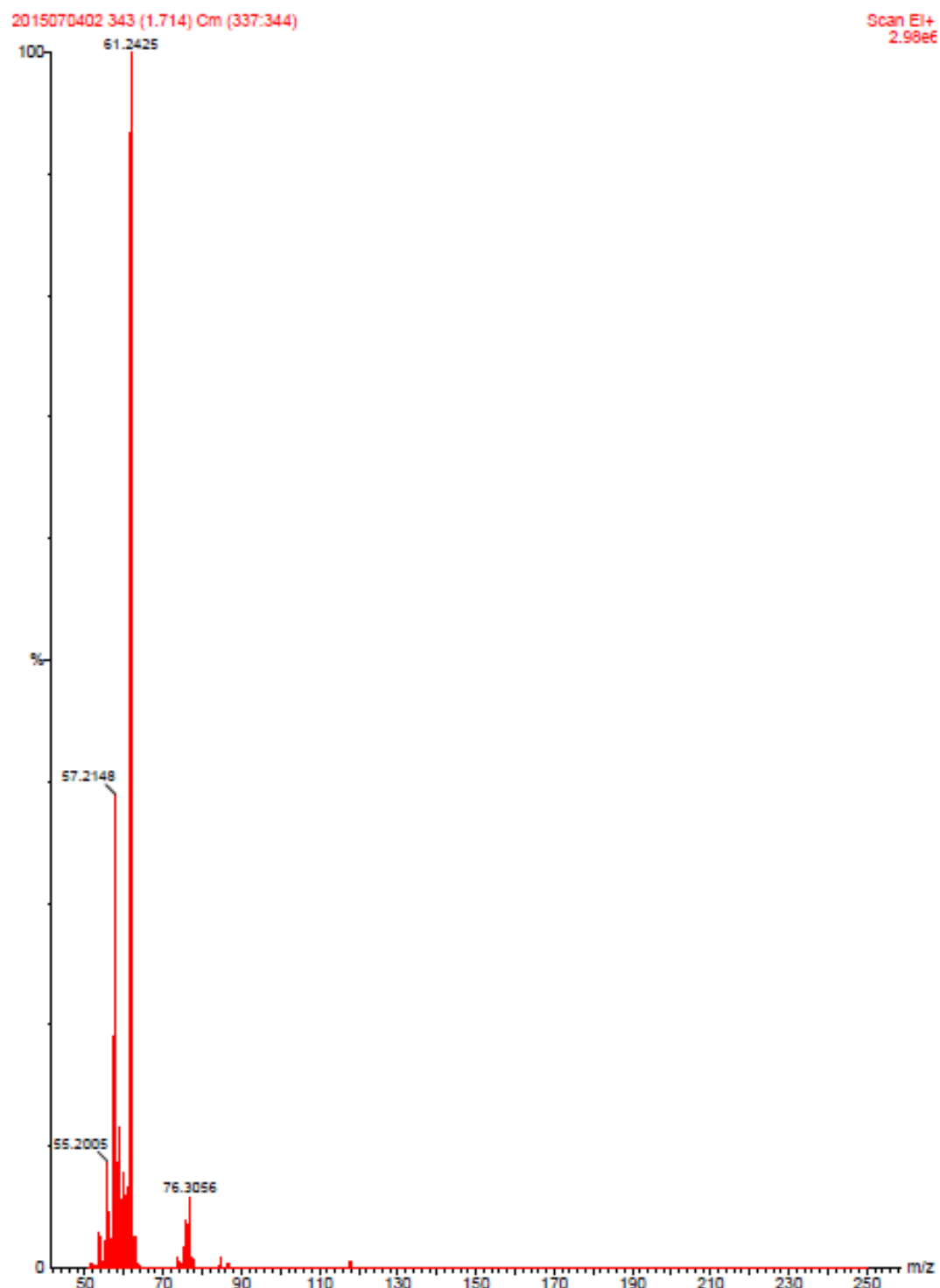
Anexo H3- Espectro de massa do ciclo-hexanol no padrão



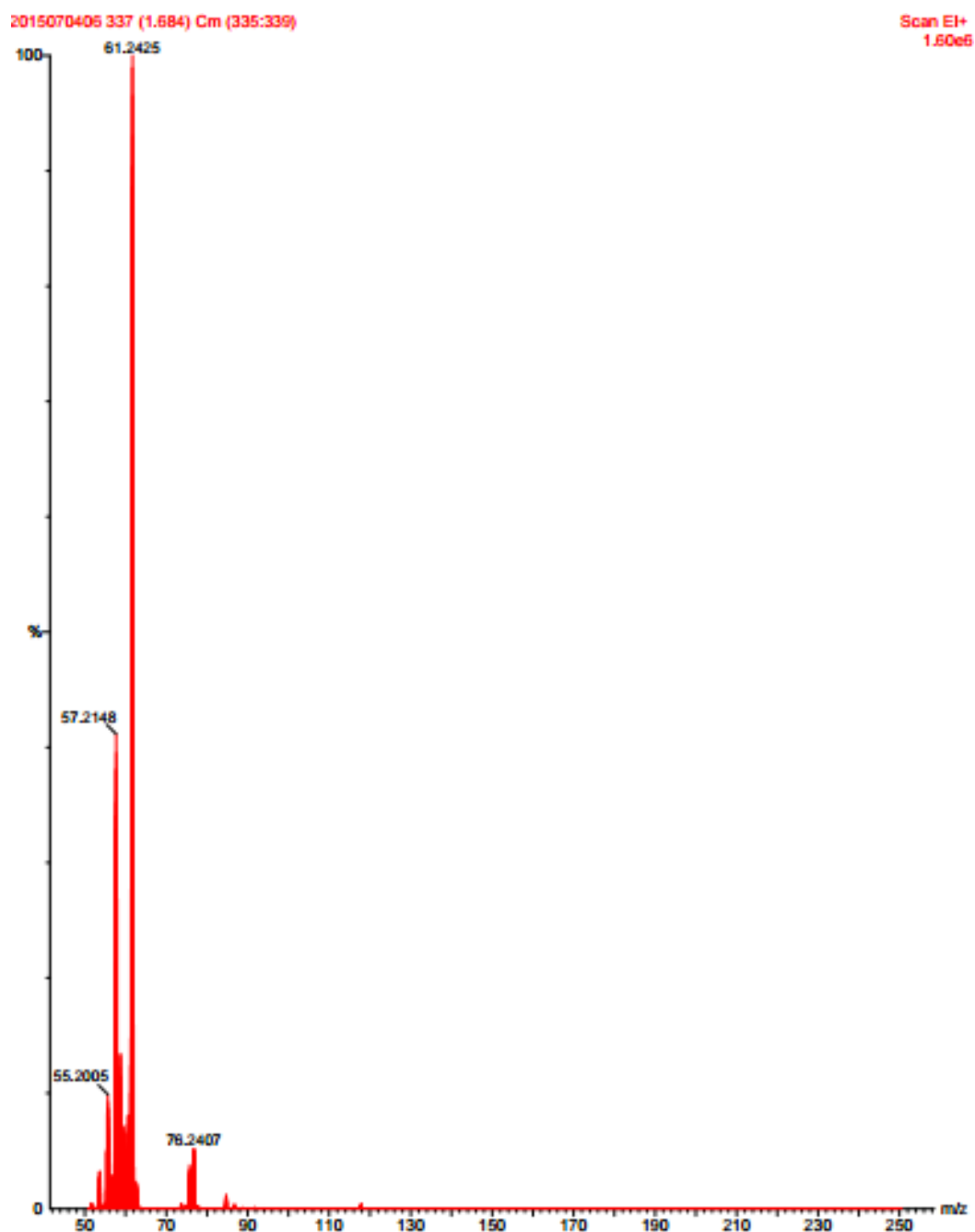
Anexo H4- Espectro de massa do ciclo-hexanol no Vertimec Gold



Anexo H5- Espectro de massa do 1,2-propanodiol no padrão

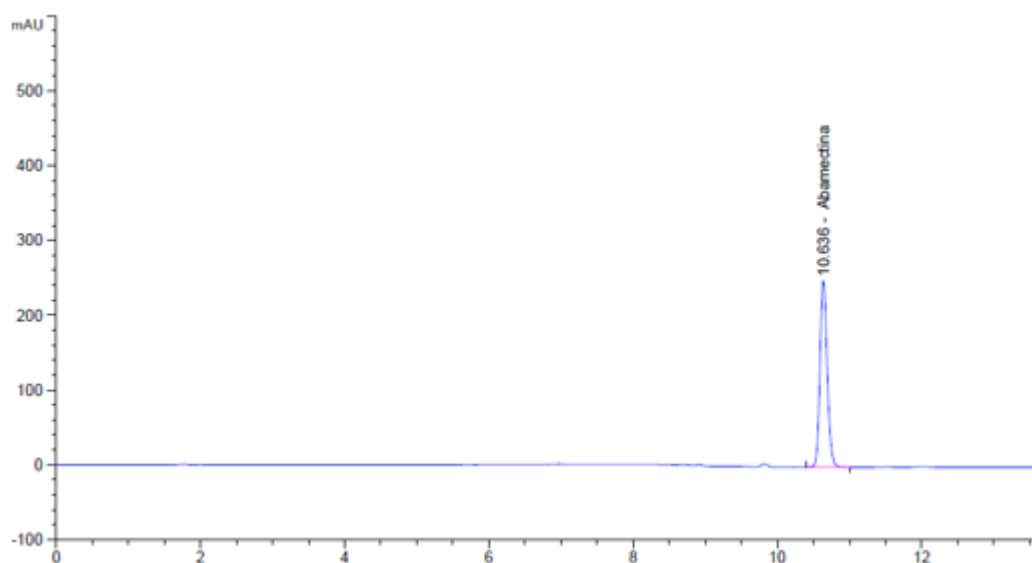


Anexo H6- Espectro de massa do 1,2-propanodiol no Vertimec Gold

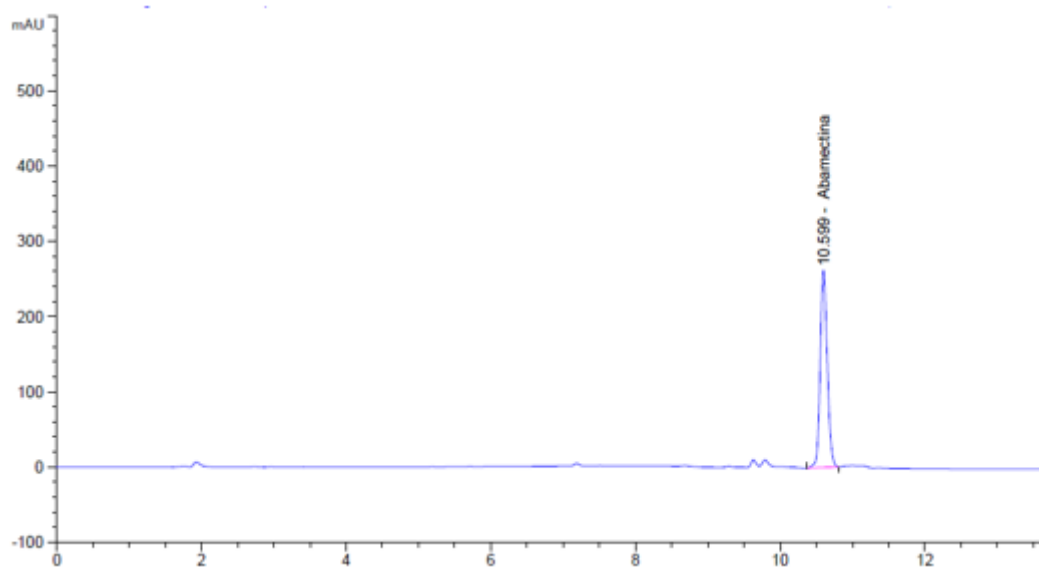


Anexo I – Cromatogramas representativos obtidos na análise do teor em substância ativa, para o Vertimec Gold e para a formulação (T0 e T14). O eixo do x representa unidades de absorvância, em mAU e o eixo do y representa o tempo, em minutos

Anexo I1 – Padrão de Abamectina



Anexo I2 – Amostra de Vertimec Gold



Anexo I3 – Amostra da Formulação

